

---

Aus der Klinik für Schweine  
(Vorstand: Prof. Dr. Dr. Karl Heinritzi)  
der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

---

**Vergleichende Untersuchungen zum Vorkommen von  
*Salmonella* spp., *Campylobacter* spp. und *Yersinia* spp.  
bei Mastschweinen und deren Schlachtkörpern, unter  
Berücksichtigung von Haltungsfaktoren und  
Betriebsmanagement**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde  
der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von  
Benjamin Müller  
aus Bonn

München 2010

---

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Braun  
Berichterstatte: Univ.-Prof. Dr. Dr. habil. Heinritzi  
Korreferent/en: Priv.-Doz. Dr. Schalch

Tag der Promotion  
24. Juli 2010

---

**Meiner Familie**

---

Die Förderung des Vorhabens erfolgte aus Mitteln des Bayerischen Staatsministeriums für Umwelt, Gesundheit und Verbraucherschutz im Rahmen des Forschungsvorhabens „Visuelle Fleischuntersuchung in Bayern“.

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung .....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Literaturübersicht .....</b>	<b>2</b>
2.1	Salmonellen.....	2
2.1.1	Ätiologie.....	2
2.1.2	Epidemiologie.....	3
2.1.3	Salmonellen-Infektion beim Menschen.....	3
2.1.4	Salmonellen-Infektion beim Schwein.....	5
2.1.4.1	Bedeutung von Salmonellen in der Schweineproduktion.....	5
2.1.4.2	Bedeutung von Salmonellen im Schlachtprozess.....	8
2.1.5	Diagnostik von Salmonellen .....	9
2.2	Campylobacter .....	10
2.2.1	Ätiologie.....	10
2.2.2	Epidemiologie.....	11
2.2.3	Campylobacter-Infektion beim Menschen .....	12
2.2.4	Campylobacter-Infektion beim Schwein .....	13
2.2.4.1	Bedeutung von Campylobacter in der Schweineproduktion .....	13
2.2.4.2	Bedeutung von Campylobacter im Schlachtprozess .....	14
2.2.5	Diagnostik von Campylobacter.....	15
2.3	Yersinien .....	16
2.3.1	Ätiologie.....	16
2.3.2	Epidemiologie.....	17
2.3.3	Yersinien-Infektion beim Menschen .....	18
2.3.4	Yersinien-Infektion beim Schwein .....	19
2.3.4.1	Bedeutung von Yersinien in der Schweineproduktion .....	19
2.3.4.2	Bedeutung von Yersinien im Schlachtprozess.....	20
2.3.5	Diagnostik von Yersinien .....	21
2.4	Gesundheitsüberwachung.....	23
2.4.1	Salmonellen-Monitoring in Deutschland .....	24
2.4.2	Überwachungsprogramme in Niedersachsen.....	25

2.4.3	Das Tiergesundheitsmanagementsystem der ZNVG e.G. in Schleswig-Holstein .....	26
2.4.4	Salmonellen-Monitoring in Dänemark.....	27
2.4.5	Das dänische SPF-System.....	28
<b>3</b>	<b>Material und Methoden.....</b>	<b>30</b>
3.1	Zielsetzung .....	30
3.2	Untersuchte Betriebe.....	30
3.3	Erfassung von Betriebsdaten .....	31
3.4	Durchführung der Probenentnahmen .....	31
3.4.1	Probenentnahme im landwirtschaftlichen Betrieb.....	32
3.4.1.1	Blutproben .....	33
3.4.1.2	Kottupfer.....	33
3.4.2	Probenentnahme am Schlachthof .....	34
3.4.2.1	Fleischsaftproben .....	34
3.4.2.2	Oberflächentupfer.....	34
3.5	Probentransport und Labore.....	34
3.6	Angewandte Untersuchungsmethoden.....	35
3.6.1	Diagnostik von Salmonellen .....	35
3.6.1.1	Diagnostik mittels ELISA .....	35
3.6.1.2	Diagnostik mittels PCR.....	36
3.6.2	Diagnostik von Campylobacter.....	36
3.6.2.1	Diagnostik mittels PCR.....	36
3.6.3	Diagnostik von Yersinien .....	37
3.6.3.1	Diagnostik mittels ELISA .....	37
3.7	Einteilung der Betriebe .....	38
3.7.1	Einteilung nach Schweine-Salmonellen-VO .....	38
3.7.2	Einführung eines Score-Punkte Systems zur Bewertung der Betriebsstruktur .....	38
3.8	Statistische Auswertung .....	40
<b>4</b>	<b>Ergebnisse .....</b>	<b>41</b>
4.1	Salmonellen.....	41
4.1.1	Erfassung des Betriebsstatus mittels ELISA .....	41

---

4.1.2	Veränderung des Betriebsstatus (ELISA).....	44
4.1.3	Erfassung des Betriebsstatus mittels PCR.....	45
4.1.4	Veränderung des Betriebsstatus (PCR) .....	46
4.1.5	Betriebsstatus im Vergleich: ELISA und PCR .....	47
4.1.6	Zusammenhänge zwischen den Probenentnahmen .....	49
4.1.6.1	Einzeltierebene.....	50
4.1.6.2	Betriebsebene .....	51
4.2	Campylobacter .....	53
4.2.1	Befunde im Betrieb.....	53
4.2.2	Befunde am Schlachthof .....	54
4.2.3	Betriebsstatus.....	55
4.3	Yersinien .....	56
4.3.1	Betriebsstatus.....	56
4.3.2	Veränderung des Betriebsstatus .....	57
4.3.3	Zusammenhänge zwischen den Probenentnahmen .....	58
4.3.3.1	Einzeltierebene.....	58
4.3.3.2	Betriebsebene .....	60
4.4	Einteilung der Betriebe anhand des Betriebsscore.....	62
4.4.1	Verteilung der Scorepunkte auf die Betriebe .....	62
4.4.2	Korrelationen zwischen Betriebsscore und Erregernachweis.....	62
<b>5</b>	<b>Diskussion .....</b>	<b>67</b>
5.1	Salmonellen.....	67
5.1.1	Diagnostik von Salmonellen .....	67
5.1.2	Vergleich der Probenentnahmezeitpunkte.....	70
5.2	Campylobacter .....	71
5.2.1	Diagnostik von Campylobacter.....	71
5.3	Yersinien .....	73
5.3.1	Diagnostik von Yersinien .....	73
5.3.2	Vergleich der Probenentnahmezeitpunkte.....	75
5.4	Korrelationen zwischen Betriebsscore und Erregernachweis.....	75
5.5	Schlussfolgerungen.....	77
<b>6</b>	<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>80</b>

<b>7</b>	<b>Summary .....</b>	<b>82</b>
<b>8</b>	<b>Abbildungsverzeichnis .....</b>	<b>84</b>
<b>9</b>	<b>Tabellenverzeichnis.....</b>	<b>85</b>
<b>10</b>	<b>Literaturverzeichnis.....</b>	<b>86</b>
	<b>Danksagung.....</b>	<b>101</b>



## Abkürzungsverzeichnis

AIC	Akaikes Informations-Kriterium
<i>ail</i>	attachment invasion locus
APP	<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>
<i>C.</i>	<i>Campylobacter</i>
DNA	desoxyribonucleic acid
EG	Europäische Gemeinschaft
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
IgA	Immunglobulin A
IgG	Immunglobulin G
IgM	Immunglobulin M
<i>inv</i>	invasion
LGL	Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit
NaCl	Natriumchlorid
OD	optische Dichte
PCR	polymerase chain reaction
PCV2	porcines Circovirus Typ 2
PFGE	pulsed-field gel electrophoresis
PRRSV	porcine reproductive and respiratory syndrome virus
QS	Qualitätssicherung
RAPD	random amplified polymorphic DNA
<i>S.</i>	<i>Salmonella</i>
Salm.	Salmonellen
ser.	Serovar
SPF	Specific-Pathogen-Free
spp.	Spezies plurales
TMP	Tetramethylbenzidin
VO	Verordnung
<i>Y.</i>	<i>Yersinia</i>
Yop	<i>Yersinia</i> outer protein

# 1 Einleitung

Im Jahr 2009 wurden in Deutschland vom Robert-Koch-Institut 31.185 Fälle von Salmonellose, 62.269 Fälle von Campylobacteriose und 3.699 Fälle von Yersiniose beim Menschen gemeldet (RKI, 2010).

Vertreter der Spezies *Salmonella*, *Campylobacter* und *Yersinia* sind bakterielle Krankheitserreger humaner Gastroenteritiden und werden den Zoonoseerregern zugerechnet. Da kontaminiertes Schweinefleisch einen wichtigen Vektor zur Übertragung dieser Zoonoseerreger auf den Menschen darstellt, wird dem überwiegend symptomlos infizierten Schlachtschwein als Erregerreservoir besondere Bedeutung beigemessen (Borch et al., 1996; Mataragas et al., 2008; Fosse et al., 2009).

Vor dem Hintergrund, dass solche symptomlos verlaufenden Zoonosen und andere Gefahren für die menschliche Gesundheit im Rahmen der klassischen Schlachttier- und Fleischuntersuchung nicht zu erkennen sind, wurde mit dem Erlass der Verordnungen (EG) Nr. 852-854/2004 die Grundlage für die Einführung einer risikoorientierten Fleischuntersuchung geschaffen. Mit der Verordnung (EG) Nr. 1244/2007 wurden ergänzende Durchführungsvorschriften getroffen, die es ermöglichen die Fleischuntersuchung beim Mastschwein auf eine Besichtigung zu beschränken, sofern bestimmte Bedingungen erfüllt sind. Diese Bedingungen beinhalten eine regelmäßige serologische und/oder mikrobiologische Untersuchung ausgewählter Tiere deren Ergebnisse dem Schlachthof vor der Schlachtung vorliegen müssen.

Im Rahmen dieser Arbeit wird das Vorkommen humanpathogener *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp. und *Yersinia* spp. beim Mastschwein untersucht. Ziel der Untersuchungen ist das Aufzeigen von Zusammenhängen zwischen den Ergebnissen der Probenentnahmen im Betrieb und am Schlachthof unter Berücksichtigung der angewandten diagnostischen Methodik. Gleichzeitig soll der Probenentnahmezeitpunkt im Betrieb bestimmt werden, dessen Ergebnisse am deutlichsten mit denen am Schlachthof korrelieren. Des Weiteren werden mögliche Zusammenhänge zwischen Betriebsstrukturen und Vorkommen der jeweiligen Erreger untersucht.

## 2 Literaturübersicht

### 2.1 Salmonellen

#### 2.1.1 Ätiologie

Salmonellen gehören zu den gramnegativen fakultativen Anaerobiern und werden der Familie der *Enterobacteriaceae* zugeordnet. Die 0,7-1,5 x 2,0-5,0 µm großen Stäbchenbakterien sind bis auf wenige Ausnahmen beweglich.

Die international verbindliche Grundlage für die Einteilung der Salmonellen bildet das Kauffmann-White-Schema. Diese Zuordnung auf Basis der O- und H-A Antigene wird vom WHO Collaborating Centre for Reference and Research on Salmonella am Pariser Pasteur-Institut regelmäßig aktualisiert.

Aufgrund von DNA-Analysen lässt sich das Genus *Salmonella* in die zwei Spezies *S. bongori* und *S. enterica* einteilen. Die Spezies *S. enterica* gliedert sich weiter in die sechs Subspezies *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae* und *indica* (Selbitz, 2007b). Eine neue Spezies *S. subterranea* wird seit 2004 diskutiert (Shelobolina et al., 2004).

Einschließlich der Ergänzungen durch das Supplement No. 47 sind im Kauffmann-White-Schema 2610 Serovaren definiert (Guibourdenche et al., 2010). Für Serovaren der Subspezies *enterica* wird zur korrekten Bezeichnung erst der Gattungsname, gefolgt von Subspeziesbezeichnung und Serotyp genannt. Im Sinne einer übersichtlicheren Schreibweise wird aber in der Regel nur der Gattungsname *Salmonella*, gefolgt von der Serovarenbezeichnung, beginnend mit einem Grossbuchstaben, verwendet. So wird beispielsweise aus der eigentlich korrekten Schreibweise *S. enterica* spp. *enterica* ser. Typhimurium, die Kurzbezeichnung *S. Typhimurium*. Für alle anderen Serovare, außer der Subspezies *enterica*, wird nur die Antigenformel angegeben (Selbitz, 2007b; Truper und Euzeby, 2009).

### 2.1.2 Epidemiologie

Die Vertreter der Gattung *Salmonella* kommen aufgrund ihrer hohen Tenazität ubiquitär in der Umwelt vor und sind weltweit verbreitet. Bei warmblütigen Tieren kommt hauptsächlich *S. enterica* spp. *enterica* vor (Brenner et al., 2000). Ferner kann eine gewisse Wirtsadaption beobachtet werden. Man unterscheidet wirtsadaptierte Serovaren wie beispielsweise *S. Typhi* und *S. Paratyphi* beim Menschen oder *S. Choleraesuis* und *S. Typhisuis* beim Schwein. Daneben gibt es wirtsunspezifische, krankheitserregende Serovaren, wie etwa *S. Typhimurium* und *S. Enteritidis* und wirtsunspezifische, nicht invasive Serovaren. Grundsätzlich muss aber davon ausgegangen werden, dass alle Spezies für Mensch und Säugetiere infektiös sein können. Demnach muss jedes tierische Salmonellenisolat als humanpathogen und somit als potenzieller Zoonoseerreger betrachtet werden (Selbitz, 2007b).

Der Serovar *S. Enteritidis* ist nach wie vor der dominierende Erreger bei humanen Erkrankungen. Der Anteil des zweithäufigsten Serovars *S. Typhimurium* hat sich in den letzten Jahren verringert. Trotz leichter jährlicher Verschiebungen in der Häufigkeit der Nachweise dieser beiden wichtigsten Serovaren hat sich seit längerem ein gemeinsamer Anteil von 90% als stabil erwiesen (Heise, 2004).

### 2.1.3 Salmonellen-Infektion beim Menschen

Bei der Salmonellose des Menschen unterscheidet man zwischen zwei verschiedenen Krankheitsbildern. Zum einen das des Typhus und Paratyphus, verlaufend als fieberhafte Allgemeininfektion, zum anderen das der Salmonellenenteritis. Typhus und Paratyphus werden durch die humanadaptierten Serovaren *S. Typhi* und *S. Paratyphi* A, B und C ausgelöst, sind jedoch in vielen Industrieländern stark zurückgedrängt worden. Die Salmonellenenteritis gehört zum Komplex der infektiösen Gastroenteritis und wird hauptsächlich durch nicht wirtsadaptierte Serovaren, unter denen *S. Typhimurium* und *S. Enteritidis* an der Spitze stehen, ausgelöst (Selbitz, 2007b).

Eine Infektion mit Salmonellen erfolgt überwiegend durch den Verzehr kontaminierter Lebensmittel tierischen Ursprungs, wie Eier, Fleisch und Wurst. Dabei können Lebensmittel direkt oder indirekt kontaminiert sein. Eine direkte Kontamination findet intravital (Milch, Eier, Fleisch) statt. Zu einer indirekten Kontamination kommt es postmortal über Gerätschaften, Wasser, infizierte Personen, Nagetiere oder Insekten als Vektoren. Vergleichsweise selten gehen Infektionen des Menschen von salmonellosekranken oder salmonelleninfizierten Tieren in der Landwirtschaft, am Schlachthof oder von Heimtieren aus (Blaha, 1992; Heise, 2004). Weniger als 10% der Infektionen kommen durch eine direkte Übertragung von Mensch zu Mensch zustande (Pöhn, 1983).

Die Inkubationszeit nach einer Salmonellen-Infektion beträgt höchstens sieben Tage. Erregereigenschaften und Disposition des Empfängers bestimmen das klinische Bild. Häufig kommen milde oder symptomlose Verläufe vor.

Die ersten Symptome einer akuten Salmonellose sind plötzlich einsetzende Abdominalschmerzen und wässrige Durchfälle. Blutbeimengungen treten nur selten im Verlauf der Erkrankung auf. Weitere Symptome können Fieber, Übelkeit, Erbrechen und Kopfschmerzen sein. Überwiegend halten die Symptome nur wenige Stunden oder Tage an. Eine immunologische Komplikation stellt die reaktive Arthritis dar, die etwa zehn Tage nach Beginn der Enteritis auftritt und länger als diese bestehen kann.

Im Regelfall läuft eine Salmonellose als Lokalinfection im Darm ab. Bei etwa 5% der Erkrankten kommt es durch das Eindringen der Salmonellen in den Blutkreislauf zum Übergang in eine systemische Infektion. Die daraus resultierende Bakteriämie ist durch Fieber, Schüttelfrost, Schweißausbrüche, Muskelschmerzen und allgemeine Schwäche gekennzeichnet.

Sowohl bei den an Enteritis erkrankten als auch bei den symptomlos infizierten Patienten kommt es zu einer Keimausscheidung über den Kot. Diese dauert in der Regel drei bis sechs Wochen, nur äußerst selten länger als sechs Monate an. Nach einer Salmonellose kommt es zu einer begrenzten Immunität gegenüber dem verursachenden Serovaren (Heise, 2004).

### **2.1.4 Salmonellen-Infektion beim Schwein**

Bei der Salmonelleninfektion des Schweines muss man zwischen zwei Problembereichen unterscheiden. Einerseits die relativ seltenen Fälle der klinischen Salmonellose, ausgelöst durch einige wenige Serovaren. Auf der anderen Seite die häufig vorkommenden subklinischen Krankheitsverläufe, die von lebensmittelhygienischer Bedeutung sind und an denen die gesamte Vielfalt der Serotypen beteiligt ist (Waldmann, 2004; Heinritzi, 2006; Selbitz, 2007b). Latent infizierte, klinisch unauffällige Tiere stellen so eine ständige Infektionsquelle für den Menschen dar (Blaha, 1993; Griffith, 2006).

#### **2.1.4.1 Bedeutung von Salmonellen in der Schweineproduktion**

Bei der klinischen Salmonellose des Schweines wird eine septikämische Verlaufsform von einer als Enterocolitis verlaufenden Form der Erkrankung unterschieden. Die septikämische Verlaufsform wird den schweineadaptierten Serovaren *S. Choleraesuis* oder *S. Typhimurium* zugeschrieben. Bei der enterocolitischen, oft subklinisch verlaufenden Form sind wirtsunspezifische Serovaren, wie *S. Typhimurium*, *S. Derby*, *S. Enteritidis*, *S. Agona*, *S. Infantis* aber auch die wirtsadaptierte Seroform *S. Choleraesuis* beteiligt (Selbitz et al., 1995).

Eine Infektion mit *S. Choleraesuis* kann von perakut septikämisch bis chronisch latent verlaufen. Saugferkel, ältere Mastschweine und Sauen sind meist nur latente Keimträger. Die septikämisch verlaufende Salmonellose tritt vor allem bei Absatzferkeln und Jungschweinen bis zu 60 kg Körpergewicht auf. Das Krankheitsbild ist gekennzeichnet durch Inappetenz, Lethargie und Fieber bis über 41 °C. In seltenen Fällen kann ein leichter, feuchter Husten mit geringgradiger expiratorischer Dyspnoe beobachtet werden. Zusätzlich zeigen die Schweine Zyanosen an den Ohren, der Rüsselscheibe und dem Unterbauch. Wässriger, gelber Durchfall tritt bei dieser Verlaufsform für gewöhnlich erst am dritten oder vierten Tag der Erkrankung auf. Nach überstandener akuter Salmonellose können sich unter Umständen weitere klinische Erkrankungen in Form von Pneumonie, Hepatitis, Enterocolitis und in

seltenen Fällen Meningoencephalitis entwickeln (Turk et al., 1992; Waldmann, 2004; Griffith, 2006; Selbitz, 2007b).

Infektionen mit nicht wirtsadaptierten Serovaren verlaufen beim Schwein überwiegend subklinisch und sind von lebensmittelhygienischer Bedeutung (Selbitz, 2007b). Von klinisch manifesten Infektionen mit nicht schweineadaptierten Serovaren sind vor allem Tiere zum Zeitpunkt des Absetzens bis zu einem Alter von vier Monaten betroffen. Die Erkrankung kann sowohl akut, als auch chronisch verlaufen und wird in den meisten Fällen *S. Typhimurium* zugeschrieben. Als erstes Symptom tritt gelber, wässriger Durchfall auf, der meist drei bis sieben Tagen anhält. Innerhalb weniger Tage breitet sich die Krankheit aus und betrifft dann häufig alle Tiere einer Bucht. In wiederkehrenden Durchfallperioden kann Blut im Kot auftreten. Die erkrankten Tiere zeigen neben Durchfall auch Fieber, eine verminderte Futteraufnahme und sind dehydriert. Zusätzlich kann es durch die Schädigung periproktaler Gefäße im Rektum zu Narbenbildungen kommen. Die Mortalitätsrate ist gering und Todesfälle treten erst nach mehreren Tagen Durchfall als Folge von Hypokaliämie und Dehydratation auf. Die meisten Schweine überstehen die Erkrankung, bleiben aber latente Keimträger und Ausscheider mit einer Dauer bis fünf Monaten (Waldmann, 2004; Griffith, 2006; Heinritzi, 2006).

Die Übertragung der Salmonellen findet hauptsächlich indirekt durch fäkal-oralen Kontakt mit kontaminiertem Kot statt. Sind die Tonsillen mit Salmonellen besiedelt, kann es in Folge der Ausscheidung über Nasen- oder Speichelsekret zur Infektion durch direkten Tierkontakt kommen. Auch die Übertragung durch Staubpartikel über kurze Entfernung wird beschrieben (Griffith, 2006). Schädner, Insekten, kontaminierte Futtermittel und der Mensch fungieren als weitere wichtige Eintragsquellen von Salmonellen in den landwirtschaftlichen Betrieb (Harris et al., 1997). Strenge Hygienemaßnahmen, wie das Wechseln der Kleidung können die Übertragung von Salmonellen durch den Menschen verhindern (Beloeil et al., 2007). Auch die vertikale Übertragung von Muttersauen auf ihre Ferkel ist möglich, wobei diese bis zu sieben Wochen nach der Geburt durch maternale Antikörper vor einer Infektion geschützt sind (Proux et al., 2000; Griffith, 2006). Eine besondere Rolle in der Übertragung von

Salmonellen spielen latent infizierte Tiere. Salmonellen haben die Fähigkeit sich Entzündungs- und Immunreaktionen zu entziehen und so eine Persistenz im Wirt zu erreichen. Durch Stress kann es bei persistent infizierten Tieren zu einer vermehrten Ausscheidung des Erregers und zum Auftreten klinischer Symptome kommen (Marg et al., 2001). Sowohl die Persistenz des Erregers in Tonsillen, kaudalen Darmabschnitten und Lymphknoten, als auch die intermittierende fäkale Ausscheidung weisen Wood et al. (1989) bis 28 Wochen im Anschluss an eine Infektion nach. Die Zeitspanne zwischen Erregerkontakt und Serokonversion wird in der Literatur unterschiedlich angegeben. Die Angaben reichen von ein bis fünf Wochen (Nielsen et al., 1995) bis mindestens acht Wochen (Proux et al., 2000). Beloeil et al. (2003) können eine Serokonversion erst im letzten Drittel der Mast nachweisen, wobei 52% der Tiere Antikörper bilden. Allerdings kommt es bereits in der ersten Hälfte der Mast bei 11,6% der Tiere zu einer Ausscheidung des Erregers. Als Risikofaktoren, die zur Serokonversion von Mastschweinen führen, gelten unter anderem die Gabe von Antibiotika und eine steigende Anzahl an Tieren pro Bucht (Beloeil et al., 2007). Untersuchungen von Kranker et al. (2001) ergeben, dass das Risiko für eine erhöhte Seroprävalenz bei Endmastschweinen steigt, wenn diese schon beim Absetzen Salmonellen ausscheiden. Allerdings können Davies et al. (1998) die bei Mastschweinen am häufigsten isolierten Serotypen weder bei Zuchtsauen noch bei Aufzuchferkeln isolieren und messen deshalb dem Eintrag von Salmonellen durch Absatzferkel in die Mastbetriebe nur geringe Bedeutung bei. Berends et al. (1996) bestätigen, dass die Infektion im Zuchtbestand von untergeordneter Bedeutung ist und sind der Meinung, dass der Maststall selbst die vorherrschende Infektionsquelle für Mastschweine darstellt. Bei der Salmonellenbekämpfung im Stall bereitet die hohe Tenazität des Erregers in der Umwelt große Probleme (Linton et al., 1970). In Untersuchungen von Baggesen et al. (1997) konnten Salmonellen in den Buchten, auf Strukturen der Stalleinrichtung, in der Lüftung, im Staub und im Kot nachgewiesen werden. Davies et al. (1997) konnten zeigen, dass Ställe auch nach intensiver Reinigung und Desinfektion noch mit Salmonellen kontaminiert waren.



#### 2.1.4.2 Bedeutung von Salmonellen im Schlachtprozess

Gegenüber der auf schweinepathogene Serovaren beschränkten und selten auftretenden klinischen Salmonellose ist die weitverbreitete symptomlose Infektion von Schweinen mit Salmonellen verschiedenster Herkunft ein ernstes lebensmittelhygienisches Problem (Waldmann, 2004).

In einer Studie des Bundesinstitutes für Risikobewertung werden 12,7% der Schlachtschweine im kulturellen Nachweis positiv auf Salmonellen getestet. Bei der Typisierung der positiven Proben wird *S. Typhimurium* mit 55,2% am häufigsten isoliert (BfR, 2008).

Im Rahmen des Salin pork-Projektes werden in Schleswig-Holstein 50% der Zuchtherden, 15% der Ferkelerzeuger und 28,3% der Mastherden serologisch positiv getestet, wobei die Prävalenz der Gesamtheit der Tiere unter 10% liegt (von Altrock et al., 2000). Daraus kann geschlossen werden, dass ein gewisser Prozentsatz an Keimträgern in fast jedem Bestand vorkommt. Unter Stressbedingungen, wie beispielsweise beim Transport zum Schlachthof können diese symptomlosen Träger erneut Salmonellen ausscheiden und somit auch gesunde Tiere bei längerem Transport oder Aufenthalt am Schlachthof infizieren (Marg et al., 2001; Wang et al., 2007). Die Erregerisolation aus Darminhalt und Lymphknoten gelingt bei diesen exponierten Tieren schon nach wenigen Stunden Aufenthalt am Schlachthof (Hurd et al., 2001a; Hurd et al., 2001b; Marg et al., 2001; Boughton et al., 2007).

Im Laufe des Schlachtvorganges findet eine weitere gegenseitige Kontamination der Schlachtkörper statt. Daher sind Schlachtkörper und Fleischwaren vom Schwein erheblich von einer indirekten Kontamination mit *Salmonella* spp. bedroht. Boes et al. (2001) stellen heraus, dass es besonders wichtig ist, dass Tiere, die aus einem Bestand kommen, der *Salmonella*-positiv ist, getrennt von Tieren transportiert und geschlachtet werden, die aus einem Bestand kommen, der als *Salmonella*-negativ eingestuft ist. Daher sollten Schlachtpartien von verdächtigen Betrieben als letztes geschlachtet werden, gefolgt von einer intensiven Reinigung und Desinfektion des Schlachtbetriebes (Nowak et al., 2007).

### 2.1.5 Diagnostik von Salmonellen

Gemäß Infektionsschutzgesetz (IfSG) ist ein Nachweis von *Salmonella* spp. im Zusammenhang mit einer akuten humanen Infektion durch das untersuchende Labor unverzüglich dem Gesundheitsamt zu melden. Eine Erkrankung an akuter infektiöser Gastroenteritis ist (einschließlich des Verdachts) unabhängig von der Ätiologie ebenfalls an das zuständige Gesundheitsamt zu melden, wenn eine Person betroffen ist, die eine Tätigkeit im Lebensmittelbereich ausübt.

Die Basis der Diagnostik der Salmonellose stellt der kulturelle Nachweis in Kombination mit klinischen Symptomen dar (Griffith, 2006). Allerdings gelingt der Nachweis häufig erst nach mehrmaligen Untersuchungen (Heinritzi, 2006). Zum serologischen Nachweis einer Salmonellen-Infektion wird vor allem der ELISA verwendet. Dieser eignet sich gut für ein Screening auf Herdenbasis und zur Identifikation positiver Herden, jedoch nicht zur Einzeltierdiagnostik. Problematisch ist, dass nicht alle Tiere serokonvertieren und dass die Aussage ob eine Probe positiv oder negativ ist auch von der Wahl des cut-off abhängt (Nielsen et al., 1995; Nowak et al., 2007). Einen Vorteil des ELISA sieht Harris (2003) darin, dass auch subklinische Infektionen nachgewiesen werden können, die für das Schwein klinisch irrelevant sind, aber möglicherweise zur Kontamination des Fleisches beitragen. Umgekehrt können Tiere, die in der bakteriologischen Untersuchung positiv sind, serologisch negativ sein (Nollet et al., 2005). Vergleiche von ELISA und kulturellem Nachweis ergeben eine gute Übereinstimmung der Tests auf Herdenebene, jedoch eine deutliche Abweichung bezüglich des Einzeltierstatus (Davies et al., 2003; Farzan et al., 2007; Nowak et al., 2007). Auf Schlachthöfen stellt der ELISA aus Fleischsaftproben zum Nachweis des Salmonellen-Risikos eine Alternative zum Serum dar (Nielsen et al., 1998). Es besteht die Möglichkeit Serum- und Fleischsaftproben kosteneffektiv gepoolt zu untersuchen (Davies et al., 2003). Zusätzlich gilt für Kotproben, dass Untersuchungen mit gepoolten Proben eine höhere Sensitivität aufweisen, als die Untersuchung von Einzelproben (Arnold et al., 2005).

Es wird auch die PCR zur Diagnostik von Salmonellen herangezogen. Nach Voranreicherung der Proben erreicht diese Methode eine vergleichbare oder höhere Nachweisrate als der kulturelle Nachweis (Feder et al., 2001). Aufgrund hoher Kosten kommt die PCR bislang größtenteils in der Forschung zum Einsatz. Zusätzlich ergibt sich bei der Diagnostik der Salmonellose das Problem, dass mit dem Nachweis von Salmonellen nicht zwingend eine Erkrankung einhergeht (Griffith, 2006). In der Geflügelproduktion wird der Einsatz von Sockentupfern zur bakteriologischen Untersuchung auf Salmonellen beschrieben. Die Vorteile sehen Skov et al. (1999) in einer vergleichbaren Sensitivität wie bei handgesammelten Kotproben und in der einfachen Durchführung im Rahmen von Bestandsbegehungen. Diese Methode beschreiben Beloeil et al. (2004) auch zur Überwachung von Schweinebeständen.

## 2.2 Campylobacter

### 2.2.1 Ätiologie

Das Genus *Campylobacter* beherbergt mehrere Spezies, von denen die wichtigsten in Subspezies, Bio- und Serovaren differenziert werden. Es handelt sich dabei um gramnegative, sporenlose, gebogene oder gelegentlich gerade Stäbchen. Die beweglichen Bakterien sind  $0,2\text{--}0,9 \times 0,5\text{--}5,0 \mu\text{m}$  groß und wachsen unter thermo- und mikroaerophilen Bedingungen (Selbitz, 2007a). Von besonderer Bedeutung sind *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari* und *C. upsaliensis*, da von ihnen eine direkte oder indirekte Übertragung von Tieren auf den Menschen möglich ist (Krauss, 2004). Als Durchfallerreger beim Menschen spielen *C. jejuni* spp. *jejuni* und *C. coli* eine wichtige Rolle. Seltener kommt es durch Infektionen mit *C. jejuni* spp. *doylei*, *C. lari* und *C. upsaliensis* zu Erkrankungen. Eine Infektion mit *C. jejuni* spp. *jejuni* kann bei verschiedenen Tierarten zu Diarrhoe führen. Im Gegensatz zur Spezies *C. coli*, die beim Tier zur normalen Darmflora gehört, ist die Tierpathogenität von *C. lari* nicht geklärt. Sie kommt hauptsächlich bei Möwen vor, wird jedoch ebenfalls aus dem Kot von

Säugetieren isoliert (Selbitz, 2007a). Bei den jeweiligen Tierarten werden unterschiedliche humanpathogene *Campylobacter*-Spezies isoliert. So findet man beim Schwein in über 90% der Fälle *C. coli*, beim Geflügel und beim Rind dagegen hauptsächlich *C. jejuni*. Diese Wirtsspezifität der Isolate wird auch in Infektionsversuchen mit Ferkeln bestätigt. Nach einer Infektion sowohl mit *C. jejuni*- und *C. coli*-Stämmen vom Geflügel, als auch mit einem porcinen *C. coli*-Stamm scheiden die Ferkel nach 80 Tagen nur noch den *C. coli*-Stamm porcinen Ursprungs aus (Leblanc Maridor et al., 2008).

### 2.2.2 Epidemiologie

Die Spezies der Gattung *Campylobacter*, insbesondere *C. jejuni* gehören zu den wichtigsten Durchfallerregern beim Menschen, wobei die Aufnahme kontaminierter Lebensmittel den häufigsten Infektionsweg darstellt (Selbitz, 2007a). Dass neben *C. jejuni* auch *C. coli* eine wichtige Rolle spielt konnten Gürtler et al. (2005a) bei Patienten mit Enteritissymptomen nachweisen. In ihren Untersuchungen handelte es sich bei 18,6% der Isolate um *C. coli*. 2009 wurden in Deutschland 62.269 Fälle von Campylobacteriose beim Menschen gemeldet (RKI, 2010).

Der klinischen Erkrankung von Tieren nach einer Infektion mit *C. jejuni* oder *C. coli* wird nur eine geringe Bedeutung beigemessen. Allerdings spielen die Tierbestände als Erregerreservoir für Lebensmittelinfektionen eine wichtige Rolle (Selbitz, 2007a). *Campylobacter* spp. kommen im Rahmen einer überwiegend symptomlosen Infektion im Darminhalt verschiedenster Haus- und Wildtierarten in unterschiedlicher Häufigkeit vor (Humphrey et al., 2007). Das Hauptreservoir für *C. jejuni* bilden wild lebende Vögel, Nutz- und Zuchtgeflügel. Als Träger und Ausscheider von *C. coli* kommt von den landwirtschaftlichen Nutztieren dem Schwein die größte Bedeutung zu. Ferner sind beide Spezies bei Hunden, Katzen, Goldhamstern, Meerschweinchen und Mäusen nachgewiesen worden (Krauss, 2004).

### 2.2.3 *Campylobacter*-Infektion beim Menschen

Die Übertragung der beiden wichtigsten humanpathogenen Spezies der Gattung *Campylobacter*, *C. jejuni* und *C. coli* erfolgt meist über kontaminierte Lebensmittel (Tam et al., 2003; Humphrey et al., 2007). Da Erhitzungsprozesse im Rahmen der Produktion oder Zubereitung vorhandene Erreger zerstören, kommen lebensmittelbedingte Infektionen durch *Campylobacter* spp. besonders durch den Verzehr roher oder rekontaminierter und nicht ausreichend erhitzter Lebensmittel zustande. Hauptvektor für eine Übertragung von *Campylobacter* spp. auf den Menschen ist Geflügelfleisch (Butzler, 2004). Auch der Konsum von rohem Schweinefleisch erhöht das Risiko, an einer Campylobacteriose zu erkranken (Studahl und Andersson, 2000). Des Weiteren kann es durch direkten Kontakt mit erkrankten Haustieren zu einer Übertragung kommen. Zum Auslösen einer klinischen Erkrankung ist eine geringe Erregermenge von ungefähr 500 Keimen ausreichend (Black et al., 1988; Selbitz, 2007a).

Die Inkubationszeit beträgt ein bis zehn Tage. Eine klinische Campylobacteriose bietet das Bild einer akuten Enteritis, die nicht von Enteritiden anderer Genese zu unterscheiden ist. Die Symptome sind Diarrhoe, Übelkeit, Abdominalschmerzen, Fieber und Müdigkeit. Die Diarrhoe variiert zwischen breiigem bis wässrigem, selten auch blutigem Kot. Die Erkrankung dauert nicht länger als zehn Tage an (Humphrey et al., 2007). Der Verlauf ist gutartig und selbstlimitierend und auch bei schwereren Verläufen durch die Gabe von Antibiotika gut beherrschbar. Unterbleibt eine antibiotische Therapie, kann es zu einer Erregerausscheidung über einen Zeitraum von zwei bis vier Wochen kommen. Erkrankte gelten solange als infektiös, wie Erreger im Kot nachgewiesen werden können. Als Spätfolge kann es selten zu einer reaktiven Arthritis kommen. In Einzelfällen kann sich eine postinfektiöse Beteiligung des Nervensystems als Guillan-Barré-Syndrom oder als Bickerstaff-Enzephalitis manifestieren. Im Verlauf einer *Campylobacter*-Infektion werden spezifische Antikörper (IgG, IgM, IgA) gebildet, zu einer länger andauernden Immunität kommt es nicht (Heise, 2004).

## 2.2.4 Campylobacter-Infektion beim Schwein

Beim Schwein gehört *C. coli* zur Normalflora im Darm und klinische Erkrankungen nach einer Infektion mit *C. jejuni* sind von geringer Bedeutung (Selbitz, 2007a). Daher besteht bei einer Infektion mit *Campylobacter* spp. in erster Linie ein fleisch- und lebensmittelhygienisches Problem. Dieses entsteht durch den sehr hohen Anteil symptomloser Ausscheider im Laufe des Schlachtprozesses.

### 2.2.4.1 Bedeutung von Campylobacter in der Schweineproduktion

*Campylobacter* spp. sind beim Schwein weit verbreitet. Bei Mastschweinen werden Prävalenzen über 80% nachgewiesen (Weijtens et al., 1993; von Altrock et al., 2006). In einer Untersuchung von Alter et al. (2005) wird ausschließlich *C. coli* isoliert. Beim Anteil von *C. jejuni* schwanken die Angaben deutlich von 2,9% bis 29% der Isolate (von Altrock et al., 2006; Wehebrink et al., 2008).

Ferkel stecken sich während den ersten Lebenswochen bei der Muttersau an. Nach Weijtens et al. (1997) sind bereits 90% der vier Wochen alten Ferkel mit dem Erreger infiziert. Alter et al. (2005) bestätigen die häufige Infektion der Ferkel. Sie vergleichen die Isolate der Ferkel mit denen der Muttersauen und stellen Übereinstimmungen fest. Allerdings werden in dieser Untersuchung bei Einstellung in die Mast noch weitere Subtypen isoliert, die das Bild am Ende der Mast dominieren. Die serologische Untersuchung von 30 Mastbetrieben in Niedersachsen weist bei allen Betrieben Antikörper gegen *Campylobacter* spp. nach. Ein Drittel der gewonnenen Umweltproben enthält *Campylobacter* spp.-Isolate. Neben der direkten fäkal-oralen Übertragung von Tier zu Tier trägt auch die Kontamination der Umgebung mit Kot zur Verbreitung des Erregers im Bestand bei (von Altrock et al., 2006). Berndtson et al. (1996) zeigen auf, dass die auf einem Betrieb vorkommenden *Campylobacter* spp. durch die im Bestand auftretenden Schädlinge beeinflusst werden können. Andere Faktoren, wie die Anzahl an Tieren, oder die unterschiedlichen Haltungsbedingungen, haben jedoch für die Anzahl *Campylobacter* spp.-positiver Tiere kaum eine Bedeutung (Gaull, 2002). Ebenso stellen Futtermittel

und die Anzahl der schweineliefernden Betriebe keine Risikofaktoren dar (Weijtens et al., 1993). Anhand von Vergleichsuntersuchungen in Schweinezuchtbeständen konnte nachgewiesen werden, dass Betriebe mit sehr hohem Hygienestandard bakteriologisch frei von *Campylobacter* spp. bleiben können (Weijtens et al., 2000). Daraus ergibt sich die Schlussfolgerung, dass die Hauptinfektionsquelle für das Mastschwein bereits in den Zuchtbetrieben liegt. Interventionsprogramme erscheinen daher nach Young et al. (2000) auf dieser Ebene der Produktion am sinnvollsten.

#### **2.2.4.2 Bedeutung von *Campylobacter* im Schlachtprozess**

Nach Weijtens et al. (1993) sinkt die Ausscheidung von *Campylobacter* spp. mit steigendem Alter der Schweine. Auch bei negativem Untersuchungsergebnis von Kotproben konnte in der Untersuchung der Erreger nach der Schlachtung im Ileuminhalt nachgewiesen werden. Untersuchungen über den Einfluss von Futterentzug und Transport auf die *Campylobacter*konzentration im Caecum zeigen, dass der Futterentzug, der im Allgemeinen mit dem Transport zur Schlachtung einhergeht, zu einer steigenden Konzentration von *Campylobacter* spp. im Intestinaltrakt führt (Harvey et al., 2001). In ihrer Studie untersuchen Sorensen et al. (1997) 600 Schweine auf dem Schlachthof. Davon wiesen 568 Tiere *Campylobacter* spp. im Kot auf. Bei 66,2% der Tiere gelang eine Isolierung von der Schlachtkörperoberfläche. In frischem Schweinefleisch konnten die Erreger in bis zu 3,7% der Fälle nachgewiesen werden. Spätere Untersuchungen bestätigen den Nachweis auf dem frischen Schlachtkörper, allerdings liegen die Nachweisraten dort unter 22% (Gaul, 2002; von Altrock et al., 2004). Die anschließende Kühlung und Abtrocknung der Oberfläche führt zu einem weiteren Rückgang der Nachweisrate auf 0,8% (Alter et al., 2005). Wehebrink et al. (2008) können nach zwölf Stunden Kühlung der Schlachtkörper keinerlei *Campylobacter* spp. mehr nachweisen. Dies deckt sich mit den Ergebnissen und der Schlussfolgerung von Pearce et al. (2003). Obwohl *Campylobacter* spp. bei Schlachtschweinen hoch prävalent sind, werden sie beim Schlachtvorgang nicht weiter verbreitet und sind nach nächtlicher Kühlung nicht mehr nachweisbar.

### 2.2.5 Diagnostik von *Campylobacter*

Für Labore besteht eine Meldepflicht gemäß § 7 des Infektionsschutzgesetzes, die sich auf den direkten oder indirekten Nachweis akuter humaner Darminfektionen hervorgerufen durch *C. jejuni* bezieht. Nach § 6 Abs. 1 Ziff. 2 sind akute infektiöse Enteritiden jeder Ätiologie durch den feststellenden Arzt dann zu melden, wenn sie Personen im Lebensmittelbereich (Tätigkeiten nach § 42 IfSG Abs. 1) betreffen, oder zwei oder mehr gleichartige Erkrankungen mit einem vermuteten Zusammenhang aufgetreten sind.

Beim Menschen empfiehlt sich im akuten Krankheitsfall eine Direktkultur aus Kotproben. Die Anzucht erfolgt beispielsweise auf Aktivkohle-Cefoperazon-Desoxycholat-Agar (CCDA) bei 37°C unter mikroaerober Atmosphäre für 44 Stunden. Für den Fall, dass nur geringe Erregermengen ausgeschieden werden, wie bei Patienten mit Guillan-Barré-Syndrom, sind im Vorfeld flüssige Anreicherungsverfahren hilfreich (Kist, 2002). Im Rahmen epidemiologischer Untersuchungen ist die weitere Differenzierung der einzelnen Spezies von großer Bedeutung. Bei der Typisierung von *C. jejuni* werden die Serotypen aufgrund ihrer hitzestabilen Antigene, die mithilfe der passiven Hämagglutination nachgewiesen werden, differenziert (Penner und Hennessy, 1980). Lior (1984) schlägt für einige Spezies die Einteilung anhand ihrer hitzelabilen Antigene in Biovaren vor. Demnach kann *C. jejuni* in vier Biovare, *C. coli* und *C. lari* in jeweils zwei Biovaren eingeteilt werden. Neben diesen serologischen Differenzierungsmethoden gibt es mehrere Methoden der Genotypisierung. Mit ihrer Hilfe lassen sich Stämme unterscheiden, die serologisch nicht typisierbar sind. Es kommen vor allem die *Flagellin*-Typisierung, die PFGE (pulsed-field gel electrophoresis), die RAPD (random amplified polymorphic DNA) und die Ribotypisierung zum Einsatz (Wassenaar und Newell, 2000). Zur sicheren und schnellen Differenzierung der Spezies wird beim Menschen auch eine Kombination aus PCR und nachgeschaltetem ELISA vorgeschlagen. Diese Methode ist einfach in der Handhabung, spart weitere PCR-Tests zur Speziesdifferenzierung und kann mit DNA-Extrakten aus Stuhlproben durchgeführt werden (Metherell et al., 1999). Die Kombination aus PCR und



ELISA eignet sich aufgrund der Zeitersparnis auch für die Untersuchung von Lebensmittelproben (Bolton et al., 2002). Beim Vergleich der herkömmlichen kulturellen Anzucht und kommerziellen ELISA- und PCR-Testkits ergibt sich kein statistischer Unterschied bei der Nachweishäufigkeit (Nesbakken et al., 2003). Eine einfache, schnelle und sichere Methode stellt die PCR dar, die in verschiedenen Formen beschrieben wird. Neben der Zeitersparnis lassen sich die häufig vorkommenden Spezies nicht nur nachweisen, sondern auch gleichzeitig differenzieren (Giesendorf und Quint, 1995; Gonzalez et al., 1997; Wang et al., 2002). Mithilfe eines Protokolls zur DNA-Extraktion gelingt der Nachweis direkt aus Kotproben (Linton et al., 1997). Hier muss jedoch beachtet werden, dass *Campylobacter* spp. intermittierend ausgeschieden werden (Leblanc Maridor et al., 2008).

## 2.3 Yersinien

### 2.3.1 Ätiologie

Die Vertreter der Gattung *Yersinia* werden der Familie der *Enterobacteriaceae* zugeordnet. Es handelt sich hierbei um gramnegative kokkoide Stäbchenbakterien mit einer Größe von 0,8-1,0 x 3,0 µm. Von medizinischer Relevanz sind die drei tier- und humanpathogenen Spezies *Y. enterocolitica*, *Y. pseudotuberculosis* und *Y. pestis*. Des Weiteren gibt es die fischpathogene Spezies *Y. ruckeri* deren Einordnung in den Genus *Yersinia*, aufgrund geringer DNA-Homologie, umstritten ist. Die übrigen bekannten Spezies *Y. kristensenii*, *Y. intermedia*, *Y. mollarettii*, *Y. bercovieri*, *Y. frederiksenii* und *Y. rhodei* gelten als apathogen (Selbitz, 2007b).

Von besonderem Interesse ist *Y. enterocolitica*, da der Erreger vor allem im Darminhalt gesunder Schweine vorkommt, aber auch bei Hunden und Katzen isoliert wird. Zusätzlich werden in unterschiedlicher Häufigkeit humanpathogene Stämme von *Y. enterocolitica* in Nahrungsmitteln tierischen Ursprungs nachgewiesen (Bottone, 1999).

Eine Einteilung der *Y. enterocolitica*-Stämme erfolgt anhand charakteristischer serologischer und biochemischer Reaktionen. Es sind 60 O-Antigene und 44 H-Antigene bekannt, das entsprechende Antigenschema schließt die apathogenen Yersinien mit ein (Selbitz, 2007b). Eine Definition von Biovarien ist möglich. Wauters et al. (1987) grenzen sechs Biovarien (1A, 1B, 2–5) voneinander ab, wobei Stämme der Biovar 1A avirulent sind. Die humanpathogenen Stämme gehören zu den Serotypen O:3, O:8, O:9 und O:5,27 und zu den Biotypen 1B, 2, 3 und 4. Wichtige Pathogenitätsfaktoren sind plasmiddeterminiert. *Y. enterocolitica* besitzt ein 70 kb umfassendes Virulenzplasmid (pYV), dessen Produkte die Virulenz wesentlich bestimmen. Die von ihm gebildeten Yops (*Yersinia*-outer-proteins) schalten zelluläre Abwehrleistungen aus, damit die Erreger extrazellulär im Wirt besser überleben können (Heise, 2004). Weitere wichtige Virulenzmarker sind die chromosomal determinierten *ail* (attachment invasion locus)- und *inv* (invasion)-Gene, die an der Penetration der Darmwand beteiligt sind. Das *ail*-Gen kommt darüber hinaus nur in humanpathogenen Biotypen vor (Miller et al., 1990).

### **2.3.2 Epidemiologie**

*Y. enterocolitica* ist weltweit verbreitet. Viele Tierarten sind mit dem Erreger infiziert, meist ohne selbst zu erkranken (Bottone, 1999). Allerdings spielt vor allem das Schwein eine wichtige Rolle, da es als einzige lebensmittelliefernde Tierart humanpathogene *Y. enterocolitica*-Stämme beherbergt (Kapperud, 1991; Fredriksson-Ahomaa et al., 2006). Die geographische Verbreitung der Serotypen und Biotypen ist unterschiedlich und verändert sich. In Europa sind Stämme der Serotypen O:9 (Biovar 2), O:3 (Biovar 4) und O:5,27 (Biovarien 2 und 3) epidemiologisch und klinisch bedeutsam. In Nordamerika steht traditionell die Biovar 1B mit den Serovaren O:8, O:13, O:20 und O:21 im Vordergrund. Allerdings findet in den USA eine Verschiebung hin zu O:3 statt. Diese bei Erkrankten nachgewiesenen Stämme entsprechen den Nachweisen bei Tieren und in tierischen Lebensmitteln (Heise, 2004; Selbitz, 2007b).

### 2.3.3 Yersinien-Infektion beim Menschen

Die Übertragung von *Y. enterocolitica* erfolgt in der Regel über kontaminierte Lebensmittel tierischer Herkunft, ist aber auch über kontaminiertes Wasser oder direkt von Mensch zu Mensch möglich. Wichtige Vektoren sind rohes oder ungenügend erhitztes Schweinefleisch sowie Rohmilch. Sowohl bei der Schlachtung der Tiere, als auch bei der Verarbeitung von Lebensmitteln können die Erreger über kontaminierte Geräte, Arbeitsflächen oder die Hände verbreitet werden. Auch direkter Kontakt mit Nutz-, Haus- und Heimtieren, insbesondere Hunden und Katzen, kann zu einer Infektion führen (Bottone, 1999; Fredriksson-Ahomaa et al., 2006). *Y. enterocolitica* bleibt bei Temperaturen um 4°C und unter mikroaeroben Bedingungen infektiös und vermehrt sich. Deshalb kann es in abgepackten kontaminierten Lebensmitteln zu einer kritischen Anreicherung der Keime kommen. Darüber hinaus überlebt der Erreger längere Zeit in tiefgefrorenen Nahrungsmitteln (Kapperud, 1991). Nosokomiale Infektionen und Übertragungen durch Blutkonserven infizierter Spender sind möglich. Mäki-Ikola et al. (1997) können bei gesunden Blutspendern eine serologische Prävalenz von etwa 40% feststellen, was eine Vielzahl subklinischer Infektionen beim Menschen vermuten lässt.

Das klinische Bild einer Infektion mit *Y. enterocolitica* stellt sich im Regelfall als unspezifische Enteritis dar. Die Inkubationszeit beträgt zwei bis fünf Tage. Es treten neben dünnbreiigem Durchfall Übelkeit, starke Bauchschmerzen und Fieber auf. Der Kot kann selten Schleim oder Blut enthalten. Die Enteritis hält überwiegend ein bis zwei Wochen an und der Erreger wird bis zu drei Wochen ausgeschieden. Die begleitende Lymphadenitis der mesenterialen Lymphknoten kann schmerzhaft sein und sich als Pseudoappendicitis präsentieren. In der Regel verläuft die Erkrankung als Lokalinfection im Bereich des Darmes ab, es sind aber auch extraintestinale Krankheitserscheinungen möglich. Bei immunsuprimierten Patienten kann es zu einer Septikämie kommen. In Einzelfällen werden Meningitiden oder Harnwegsinfektionen beschrieben. Etwaige Folgeerkrankungen, die bis zu einem Monat nach den akuten Symptomen auftreten können, sind Erythema nodosum, reaktive Arthritis, Uveitis, Glomerulonephritis und Myocarditis.

Bereits wenige Tage nach einer Infektion mit *Y. enterocolitica* werden Antikörper gebildet, die für ungefähr sechs Monate persistieren und eine serologische Diagnostik ermöglichen (Bottone, 1999; Heise, 2004).

### **2.3.4 Yersinien-Infektion beim Schwein**

Viele Schweine sind symptomlose Träger von *Y. enterocolitica*, insbesondere der humanpathogenen Stämme O:3 und O:9 (Kapperud, 1991; Nesbakken et al., 2003). Sie können beim Menschen, der sich über kontaminiertes Fleisch infiziert, Enteritiden hervorrufen. Da enterische Erkrankungen in diesem Zusammenhang zunehmend diagnostiziert wurden, gewinnt die subklinische *Yersinia*-Infektionen des Schweins eine ähnliche fleischhygienische Bedeutung, wie die Kontamination mit Salmonellen (Waldmann, 2004).

#### **2.3.4.1 Bedeutung von Yersinien in der Schweineproduktion**

*Y. enterocolitica* wird als fakultativ-pathogen angesehen und Schweine gelten als symptomlose Träger verschiedener Serotypen. Im Experiment sind bei Ferkeln Enteritiden, Serositiden, Arthritiden, Meningoencephalitiden und nekrotisierende Tonsillitiden provozierbar. Der Erreger wird vereinzelt auch als Verursacher von fieberhaftem, blutigem Durchfall nachgewiesen. Bei Sauen werden Fruchtbarkeitsstörungen und Aborte beschrieben (Nattermann et al., 1986; Waldmann, 2004; Selbitz, 2007b).

Die Tonsillen eignen sich für den Nachweis einer Infektion am besten. Bereits kurz nach einer Infektion lässt sich der Erreger dort nachweisen (Thibodeau et al., 1999). Er kann über Monate in den Tonsillen persistieren, während eine Ausscheidung über den Kot nicht sicher nachzuweisen ist (Kapperud, 1991). Zu ähnlichen Ergebnissen kommen Nesbakken et al. (2006), die zu verschiedenen Zeitpunkten während der Mastperiode den kulturellen Nachweis von *Y. enterocolitica* Bioserotyp 4/O:3 aus Kot und Tonsillen und den serologischen Nachweis aus Blutproben miteinander vergleichen. Aufgrund der zeitlich sehr unterschiedlichen Nachweisraten kommen sie zu dem Schluss, dass bei Schweinen, die ab dem 135. Lebenstag geschlachtet werden die Tonsillen ein signifikant größeres Erregerreservoir darstellen als der Kot.

Serologische Untersuchungen in Norwegen zeigen, dass 86% der untersuchten reinen Mastbestände positiv sind, wohingegen die Herdenprävalenz bei geschlossenen Systemen mit 53,1% erheblich niedriger liegt (Skjerve et al., 1998). Gürtler et al. (2005b) können bei ihren Untersuchungen in geschlossenen Systemen zeigen, dass Kotproben von Saug- und Absetzferkeln negativ sind und erst in der angeschlossenen Mast der Erreger nachzuweisen ist. Wehenbrink et al. (2008) bestätigen dies mit ähnlichen Ergebnissen. Infizierter Kot und schlecht gereinigte Mastställe stellen die wichtigste Infektionsquelle dar (Fukushima et al., 1983). Insbesondere die intensive Haltung von Schweinen führt zur Verbreitung von *Y. enterocolitica* in den Betrieben. Es kann festgestellt werden, dass große Mastbetriebe, die ihre Mastläufer aus unterschiedlichen Betrieben beziehen, auch die höchste Erregerprävalenz aufweisen. Schwierig ist die Bekämpfung von *Y. enterocolitica* in Schweinebeständen insbesondere durch die häufig auftretenden persistent infizierten Trägartiere und das gleichzeitig in Mastbeständen weit verbreitete Vorkommen des Erregers (Skjerve et al., 1998; Fosse et al., 2009). In der direkten Umgebung kontaminierter Schweinebestände kann nur ein geringes Vorkommen von *Y. enterocolitica* gleichen Genotyps nachgewiesen werden (Pilon et al., 2000). Zur Prophylaxe, vor allem zur Zurückdrängung subklinischer Infektionen, sind Trennung der Altersgruppen in der Aufzucht und lückenloses Rein-Raus-Verfahren angebracht (Waldmann, 2004). Nach Nesbakken et al. (2007) muss eine erfolgreiche *Y. enterocolitica*-Sanierung von der Spitze der „Zuchtpyramide“ beginnen, um eine niedrigere Erregerprävalenz in allen Betrieben zu erreichen.

#### **2.3.4.2 Bedeutung von Yersinien im Schlachtprozess**

In den meisten Fällen wird die Yersiniose des Schweines durch die Fleischuntersuchung nicht erfasst, da die Tiere in der Schlachttieruntersuchung keine klinischen Symptome zeigen und pathologische Veränderungen im Laufe des Schlachtprozesses makroskopisch nicht sichtbar werden. Die größte Kontaminationsgefahr am Schlachthof geht von dem Kot und den Tonsillen der Schweine aus (Kapperud, 1991; Borch et al., 1996; Skjerve et al., 1998). Es

kommt insbesondere durch Evisceration, Heraustrennen des Geschlinges inklusive Tonsillen und Anschnitt der Mandibularlymphknoten zu Kreuzkontaminationen (Kapperud, 1991).

In Süddeutschland wurden Untersuchungen zum Vorkommen von *Y. enterocolitica* Bioserotyp 4/O:3 durchgeführt. Es konnte eine Prävalenz von 60% in Tonsillen und 10% in Kotproben festgestellt werden. Diese Studie bestätigt die Vermutung, dass die Hauptkontaminationsquelle für *Y. enterocolitica* am Schlachthof die Tonsillen infizierter Tiere sind (Fredriksson-Ahomaa et al., 2001). Andere Studien kommen zu ähnlichen Nachweisraten und bestätigen diese Ergebnisse (Nesbakken et al., 2003; Nesbakken et al., 2006). De Boer et al. (2008) dagegen können in einer niederländischen Studie diese hohen Prävalenzen nicht bestätigen. Sie weisen in 9,3% der Tonsillen und 3,3% der Kotproben humanpathogene Stämme von *Y. enterocolitica* nach. Fukushima et al. (1990) zeigten, dass *Y. enterocolitica* auch am Schlachthof horizontal von Schwein zu Schwein übertragen wird. Die Infektion der Tiere erfolgt kurz vor der Schlachtung über den Kot infizierter Ausscheider, in kontaminierten Transportfahrzeugen oder im Wartestall.

### **2.3.5 Diagnostik von Yersinien**

Auch *Y. enterocolitica* ist gemäß § 7 nach dem geltenden Infektionsschutzgesetz bei nachgewiesener akuter Infektion meldepflichtig (IfSG 2000). Eine sichere ätiologische Diagnose der enteralen Yersiniose ist nur durch gezielten bakteriologischen Erreger- oder serologischen Antikörpernachweis möglich.

Bei Enteritiden werden *Yersinia* spp. sowohl beim Menschen als auch beim Tier direkt aus Kot standardmäßig auf Cefsulodin-Irgasan-Novobiocin-(CIN)-Agar bei 28-30°C kulturell angezüchtet. Die Diagnostik bei gesunden Ausscheidern oder Verdachtsfällen erfolgt anhand einer Kälteanreicherung in phosphatgepufferter NaCl-Lösung (drei Wochen bei 4°C) mit anschließender Subkultur auf *Yersinia*-Selektivnährmedien. Es können prinzipiell aber auch solche Nährmedien genutzt werden, die allgemein für *Enterobacteriaceae* eingesetzt werden. In Frage kommen beispielsweise MacConkey (MAC)- und

Salmonella-Shigella-Agarmedium mit Desoxycholat-Zusatz (SSDC). Die anschließende Identifizierung erfolgt anhand biochemischer Kriterien und einer Serotypisierung auf Basis der O-Antigene. Für den Yersinien-Nachweis geeignete Untersuchungsmaterialien sind mesenteriale Lymphknoten, Darm, Eiter oder Blutkulturen (Heise, 2004; Selbitz, 2007b). Die Nachteile der kulturellen Anzucht sind die lange Dauer und die geringe Sensitivität (Fredriksson-Ahomaa und Korkeala, 2003).

Daher wurden in den letzten Jahren verschiedenste PCR-Methoden entwickelt, um *Y. enterocolitica* aus klinischem Material, Lebensmitteln und Umweltproben nachzuweisen. Die zentralen Ansatzpunkte für einen spezifischen Nachweis von *Y. enterocolitica* mittels PCR gestützter Verfahren bilden das Virulenzplasmid (pYV), das hitzestabile Enterotoxin-Gen (*yst*) und die an der Invasion beteiligten Gene *ail* und *inv* (Arnold, 2002; Fredriksson-Ahomaa und Korkeala, 2003).

Zum serologischen Nachweis von Antikörpern gegen *Y. enterocolitica* hat sich die Langsamagglutination (Widal-Reaktion) bewährt. In Serumverdünnungen sind Agglutinititer gegen OH-Antigene von 1:160 und höher beweisend für das Vorliegen einer Infektion. Antigengemeinschaften von *Y. enterocolitica* Serovar O:9 zu *Brucella suis*, *B. abortus* und *B. melitensis* müssen jedoch bei der Beurteilung serologischer Befunde mitberücksichtigt werden.

Ein ELISA erfasst IgM-, IgA- und IgG-Antikörper. Bei einem Immunblot unter Verwendung eines Virulenzassoziierten 70 kb Plasmids (Yops) lassen sich so serologische Kreuzreaktionen mit *Brucella* spp. ausschließen (Heise, 2004; Krauss, 2004; Selbitz, 2007b). Der Antikörpernachweis mittels ELISA ist ein einfaches und schnelles Verfahren um den Infektionsstatus einer ganzen Herde einzuschätzen und in infiziert und nichtinfiziert zu kategorisieren. Er sagt jedoch wenig über den Status des Einzeltieres aus und es ist keine Aussage zu treffen, ob die Tiere den Erreger zum untersuchten Zeitpunkt ausscheiden (Skjerve et al., 1998; Thibodeau et al., 2001; Nesbakken et al., 2006).

## 2.4 Gesundheitsüberwachung

Zoonoseerreger wie Salmonellen, Campylobacter und Yersinien gehören zu den häufigsten Verursachern von Durchfallerkrankungen beim Menschen (RKI, 2010). Diese und andere heute vorherrschenden Zoonosen haben teilweise ihren Ursprung in den Produktionsphasen vor der Schlachtung. Sie können ohne erkennbare klinische Symptomatik beim lebenden Tier und ohne pathologisch-anatomische Veränderungen in Organen und an Schlachtkörpern auftreten. Somit wird die klassische pathologisch-anatomisch orientierte Fleischuntersuchung den aktuellen Gefahren für die menschliche Gesundheit nicht mehr gerecht (Meemken, 2006). Tulloch (1997) kommt zu dem Schluss, dass die vorgeschriebene Inzision und Palpation verschiedener Organe und Lymphknoten eher zu einer Kreuzkontamination des Fleisches mit pathogenen Keimen führt, als dass dadurch ein Vorteil im Sinne des Verbraucherschutzes entsteht.

Daher hat die EU bereits im Jahre 2004 mit dem Erlass der Verordnungen (EG) Nr. 852/2004, 853/2004, und speziell 854/2004 die Grundlage für die Einführung einer risikoorientierten Fleischuntersuchung geschaffen. Um eine gemeinschaftsweit einheitliche Anwendung sicherzustellen, wurden mit der VO (EG) Nr. 1244/2007 ergänzende und konkretisierende Durchführungsvorschriften zur VO (EG) Nr. 854/2004 getroffen. Darin ermöglicht sie den zuständigen Behörden ein Verfahren, in dem die Fleischuntersuchung bei Mastschweinen auf eine Besichtigung beschränkt werden kann, sofern folgende Voraussetzungen erfüllt sind. Die Haltung der Schlachttiere muss seit dem Absetzen unter kontrollierten Bedingungen und in integrierten Produktionssystemen erfolgt sein. Der Lebensmittelunternehmer muss festgelegte Informationen zur Lebensmittelkette zur Verfügung gestellt haben und eine Anzahl an ausgewählten Tieren muss regelmäßig serologisch oder mikrobiologisch auf Ebene des Haltungsbetriebes überwacht sein.

Die gesetzlichen Anforderungen nach VO (EG) Nr. 1244/2007 zu „integrierten Produktionssystemen“ wurden in die Bewertungsprotokolle des privatwirtschaftlich organisierten Qualitätssicherungs (QS) Systems



aufgenommen. Damit ist eine Auditierung bei Betrieben, die dem QS-System angeschlossen sind, möglich (QS, 2010).

Die im Vorfeld der Schlachtung durch den Lebensmittelunternehmer zu liefernden Lebensmittelketteninformationen werden in der VO (EG) Nr. 853/2004 spezifiziert.

Das einzige gesetzliche serologische Überwachungsprogramm auf Ebene des Haltungsbetriebes, dass auch im Rahmen der risikoorientierten Fleischuntersuchung momentan in Deutschland durchgeführt wird, ist das Salmonellen-Monitoring gemäß der Verordnung zur Verminderung der Salmonellenverbreitung durch Schlachtschweine (Schweine-Salmonellen-VO). Weitere, umfassendere gesetzliche Monitoringprogramme werden von wissenschaftlicher Seite angestrebt, die neben der Lebensmittelsicherheit auch die Tiergesundheit im Blick haben sollen (Meemken et al., 2009).

Neben dieser staatlichen „Gesundheitsüberwachung“, die Lebensmittelsicherheit im Rahmen des Verbraucherschutzes gewährleisten soll, gibt es auch eine Reihe privatwirtschaftlich organisierter Überwachungsprogramme. Diese zielen auch auf eine Verbesserung der Tiergesundheit ab, im Vordergrund stehen hier jedoch handelswirtschaftliche und -politische Aspekte.

#### **2.4.1 Salmonellen-Monitoring in Deutschland**

Im Jahr 2002 wurde aufgrund des Salmonelleneintrags durch Schweine in die Lebensmittelkette das freiwillige QS-System von Seiten der Wirtschaft in Deutschland eingeführt (Weber, 1996). Dieses System basiert auf einer stufenübergreifenden Qualitäts-, Prozess- und Rückverfolgbarkeitssicherung bei der Erzeugung, Verarbeitung und Vermarktung von Lebensmitteln. Mastschweine liefernde Betriebe werden mittels stichprobenartiger Untersuchungen in drei Kategorien mit niedrigem, mittlerem und hohem Risiko für den Eintrag von Salmonellen in den Schlachthof und in der Folge in die Lebensmittelkette eingestuft (Kategorie I: 0-20%, Kategorie II: 21-40%, Kategorie III: >40% positive Proben). Das Ziel ist eine stetige Verringerung der Salmonellenbelastung in Schweinefleisch (Blaha, 2004).

Im Jahr 2007 wurde die Schweine-Salmonellen-VO rechtskräftig. Aufgrund dieser ist jetzt jeder Endmastbetrieb gesetzlich dazu verpflichtet eine festgelegte Anzahl an Blutproben oder Fleischsaftproben je Schlachtpartie untersuchen zu lassen. Die Bestimmung der Kategorien I bis III erfolgt analog der des QS-Systems. Unterschiede gibt es nicht nur in der Freiwilligkeit der Teilnahme am QS-System, sondern auch in der Verantwortlichkeit und der Kategorisierung. Beim QS-System werden die Proben immer am Schlachthof entnommen und automatisch zur Untersuchung weitergeleitet. Die Kategorisierung erfolgt durch eine unabhängige Datenbank. Im Gegensatz dazu überträgt die Schweine-Salmonellen-VO die Verantwortung für Probenentnahme, Untersuchung und Kategorisierung dem Landwirt. Betriebe der Kategorie III müssen Maßnahmen wie Reinigung, Desinfektion und Schadnagerbekämpfung durchführen und nachweisen, um den Eintrag von Salmonellen zu reduzieren (Blaha, 2004).

Nowak et al. (2007) zeigen jedoch, dass die Ergebnisse der Untersuchungen am Schlachthof mit denen im Mastbetrieb nicht immer übereinstimmen. Nachdem zwei Betriebe mit Kategorie I und II im Stall serologisch nachuntersucht wurden, ergaben sich umgekehrte Kategorien. Deshalb sollte laut den Autoren anhand der Ergebnisse am Schlachthof nicht auf den Status einzelner Tiere oder Gruppen geschlossen werden. Sie fordern Mastschweine bereits im Betrieb zu untersuchen.

#### **2.4.2 Überwachungsprogramme in Niedersachsen**

In Kooperation mit dem Schweinegesundheitsdienst Niedersachsen und Erzeugergemeinschaften bzw. Beratungsringen im Landkreis Emsland werden Gesundheitsscreening-Programme erstellt. Ziel ist es, dass alle teilnehmenden Betriebe Ferkel mit einem definiertem Gesundheitsstatus liefern können. Dies soll den Ferkelabsatz am deutschen Markt gegenüber der Konkurrenz aus Nachbarländern wie Dänemark oder den Niederlanden stärken, die ähnliche Maßnahmen durchführen. Seit dem Jahr 2007 lassen die beteiligten Erzeugergemeinschaften oder Beratungsringe zweimal jährlich die Aufzuchtferkel vor dem Verkauf kontrollieren. Im Zuge dieser

Gesundheitsscreenings werden jeweils zehn Blutproben auf PRRSV, PCV2, APP und Salmonellen untersucht.

Im Rahmen des Gesundheitsscreenings der Erzeugergemeinschaft für Qualitätsferkel (EGF) im Raum Osnabrück werden die beteiligten Ferkelerzeugerbetriebe ebenfalls zweimal jährlich untersucht. Die Anzahl der Proben wird in Abhängigkeit von der Bestandsgröße gewählt. Bei Ferkelerzeugern mit mehr als 120 Sauen werden 15 Blutproben von den Sauen entnommen, bei einem Bestand unter 120 Sauen zehn Stück. Die Untersuchung auf PRRS findet in Abhängigkeit des Impfstatus statt. Bei geimpften Ferkeln erfolgt der direkte Erregernachweis aus zehn Blutproben, bei ungeimpften Ferkeln werden 15 Blutproben entnommen und auf Antikörper untersucht. Die Basisuntersuchungen beschränken sich auf Salmonellen und PRRSV. Es besteht aber die Möglichkeit bei Bedarf die Untersuchungen auf zusätzliche Erreger wie APP, PCV2, Lawsonien, Influenza und Mycoplasmen auszuweiten (Diekmann-Lennartz, 2008; Schulte-Wülwer, 2008).

#### **2.4.3 Das Tiergesundheitsmanagementsystem der ZNVG e.G. in Schleswig-Holstein**

Die Vermarktungsgemeinschaft für Zucht- und Nutztvieh e.G. (ZNVG) führt seit 2004 ein veterinärämtlich anerkanntes Gesundheitskontrollprogramm durch. Das zuständige Veterinäramt hat sowohl das Probenschema als auch die Labore zertifiziert. Es werden stichprobenweise Kontrollen durch Supervisor-Tierärzte durchgeführt und das Veterinäramt darüber informiert. Teilnehmer an diesem System sind Betriebe, die ihre Tiere über die ZNVG vermarkten. Bei den Überwachungsmaßnahmen wird zwischen den Betriebsstrukturen unterschieden. Hierbei unterliegen die Vermehrerbetriebe strengeren Gesundheitskontrollen als die Ferkelerzeugerbetriebe. Die bestandsbetreuenden Tierärzte führen im Rahmen der quartalsweisen Betriebsbesuche Probenentnahmen durch und beurteilen den Gesundheitszustand der Herde. Anhand einer Checkliste werden weitere Parameter wie Produktionsmanagement, Bestandsergänzung, Stallklima, Tierseuchen sowie Abferkelungs- und Belegungsmanagement inklusive der

Parameter der Schweinehaltungshygieneverordnung beurteilt. Die einzelnen Parameter werden anhand vorgegebener Punkte und eines zusätzlichen Gewichtungsfaktors bewertet. Mit Hilfe dieser Bewertung erfolgt die Einteilung in vier Kategorien A bis D. Als zusätzliches Instrument sind in der Checkliste Eingriffsschwellen festgelegt. Werden Mängel festgestellt, müssen diese bis zum nächsten Betriebsbesuch behoben werden. Bei massiven Mängeln, erfolgt die Einteilung in Kategorie D und die Vermarktung wird dann bis zur Behebung der Mängel eingeschränkt. Unterbleibt eine Mängelbehebung wird die weitere Vermarktung abgelehnt (ZNVG, 2008).

#### **2.4.4 Salmonellen-Monitoring in Dänemark**

Bereits seit dem Jahr 1995 wird in Dänemark ein Salmonellen Überwachungs- und Kontrollprogramm durchgeführt. Der Aufbau ist mit dem des deutschen Salmonellen-Monitoring vergleichbar, umfasst jedoch alle Stufen der Schweineproduktion. Vor 2005 wurden in Zuchtbetrieben monatlich zehn Blutproben entnommen und serologisch untersucht. Bei Vorliegen eines positiven Ergebnisses wurden Kotproben zur Nachuntersuchung und Spezies-Differenzierung entnommen. Von Mastbetrieben wurden quartalsweise Fleischsaftproben am Schlachthof entnommen und mittels ELISA untersucht. Die Probenanzahl richtete sich dabei nach der Betriebsgröße. Betriebe mit weniger als 200 geschlachteten Schweinen pro Jahr wurden vernachlässigt, die restlichen Betriebe mussten zwischen 60 und 100 Tiere pro Jahr untersuchen lassen. Seit dem Jahr 2005 wird risikoorientiert untersucht. Betriebe mit einem Salmonellen-Index von Null müssen nur noch eine Fleischsaftprobe pro Monat untersuchen lassen. Sauenbestände werden nur untersucht, wenn sich der belieferte Mäster auf Niveau zwei oder drei befindet. Zusätzlich werden quartalsweise Futterproben untersucht.

Die Kategorisierung dient der Risikoeinschätzung und erfolgt anhand des Salmonellen-Index, der sich aus den Ergebnissen der letzten drei Monate errechnet. Daraufhin erfolgt die Gruppierung in drei Niveaus. Für den Fall, dass die Anzahl der positiven Proben 10% überschreitet, werden Kotproben

nachuntersucht und individuelle Maßnahmenpläne erstellt (Rautiainen et al., 2001; Wegener et al., 2003; Danske-Slagterier, 2009).

Seit der Einführung dieses Programmes hat sich in Dänemark der Nachweis von Salmonellen im Schweinefleisch und die Anzahl der Salmonellosen beim Menschen deutlich verringert (Nielsen et al., 2001).

#### **2.4.5 Das dänische SPF-System**

Das dänische SPF-System (Specific-Pathogen-Free) besteht seit 1971. Das Ziel des SPF-Systems ist, die Übertragung von Krankheiten, die in der Schweineproduktion zu wirtschaftlichen Schäden führen können, zu unterbinden. Deshalb werden die Schweine dieser Betriebe in Dänemark nur unter Berücksichtigung des Gesundheitsstatus gehandelt oder transportiert. Die derzeit ca. 3700 registrierten SPF-Betriebe sind für bestimmte Krankheitserreger unverdächtig, oder weisen zumindest einen bekannten Gesundheitsstatus auf. Diese SPF-Erreger sind *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Actinobacillus pleuropneumoniae* (APP), *Pasteurella multocida*, PRRSV, *Brachyspira hyodysenteriae*, *Sarcoptes suis* und *Haematopinus suis* (SPF-SUS, 2008). Die Organisation und die Führung einer zentralen Gesundheitsdatenbank erfolgt durch die DMA (Danish Meat Association), die durch den Zusammenschluss der drei größten dänischen Fleischfachverbände im Jahr 2006 entstand. Sie umfasst im Einzelnen die für die Schweineproduktion zuständige Danske Slagterier (DS), die Kødbranchens Fællesråd (Rindfleischwirtschaft) und die Danske Fjerkræraad (Geflügelfleischwirtschaft). Die Danske Slagterier, auch als Danish Bacon & Meat Council bezeichnet, besteht aus den beiden großen Schlachthofgesellschaften Dänemarks, die sich im Besitz einiger Schweineproduzenten befindet, und mehreren angeschlossenen Unternehmen. Die Teilnahme am SPF-System ist freiwillig und erfordert regelmäßige Gesundheitskontrollen. Außerdem müssen stallbauliche und hygienische Maßnahmen umgesetzt werden. Zur Registrierung in der Datenbank wird die bereits bestehende CHR-Nummer des Centralt Husdyrbrugregister verwendet. Dieses Zentralregister unterliegt dem dänischen Ministerium für Lebensmittel,

Landwirtschaft und Fischerei und garantiert die Rückverfolgbarkeit in der Fleischproduzierenden Kette (Danish-Qualitätshandbuch, 2007).

Das SPF-System ordnet sämtlichen Betrieben Dänemarks einen Gesundheitsstatus zu. Demnach werden verschiedene Sicherheitsniveaus, die farblich gekennzeichnet sind, unterschieden. Auf dem höchsten, roten Sicherheitsniveau befinden sich die Zucht- und Vermehrungsbetriebe. Diese Betriebe werden monatlich durch einen Tierarzt der DMA klinisch kontrolliert. Monatlich entnommene Blutproben werden serologisch auf die APP-Serotypen 2 und 4, auf Mycoplasmen und auf PRRSV untersucht. Die Untersuchung auf andere APP-Serotypen erfolgt quartalsweise bzw. jährlich serologisch. Zur Absicherung der Rhinitis-Freiheit werden Nasentupfer entnommen. Das blaue Niveau umfasst die Schlachtschweineproduktion mit Ferkelerzeuger- und Mastbetrieben. Hier erfolgen die klinischen Kontrollen mindestens alle 15 Wochen durch den Betriebstierarzt. Einmal jährlich werden Blutproben entnommen, wobei serologisch auf Antikörper gegen APP, Mycoplasmen und PRRSV untersucht wird. Die anderen SPF-Krankheiten werden klinisch beurteilt und im Verdachtsfall durch Proben verifiziert. Daneben gibt es herkömmliche Betriebe, die nicht am SPF-System teilnehmen. Es besteht allerdings die Möglichkeit, z.B. durch Bestandssanierung SPF-Status zu erlangen (SPF-SUS, 2008; Danske-Slagterier, 2009).

## **3 Material und Methoden**

### **3.1 Zielsetzung**

Im Rahmen des Forschungsvorhabens „Visuelle Fleischuntersuchung in Bayern“, gefördert durch das Bayerische Staatsministerium für Umwelt, Gesundheit und Verbraucherschutz (StmUGV) wurden auf zehn Mastbetrieben und den jeweils belieferten Schlachtbetrieben Proben entnommen, die nach einem festgelegten Probenplan untersucht wurden.

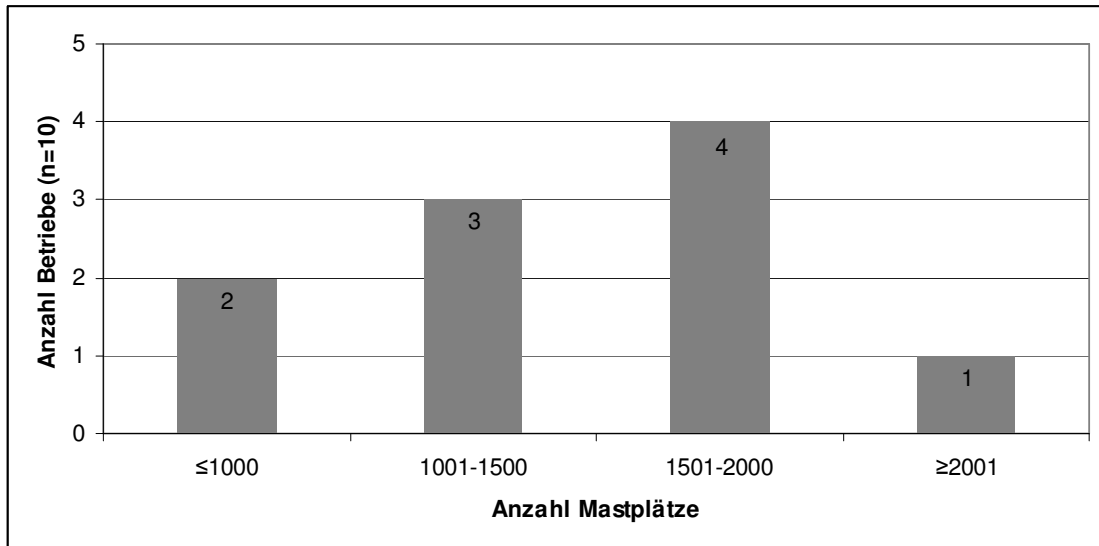
Ziel dieser Arbeit ist es, im Rahmen einer Verlaufsuntersuchung auf lebensmittelrelevante Zoonoseerreger, die Eignung der angewandten Nachweis- und Untersuchungsverfahren, in Bezug auf den zeitlichen Ablauf und die Methodik hin zu beurteilen.

### **3.2 Untersuchte Betriebe**

Die zehn beprobten Betriebe wurden im Vorfeld ausgewählt und nahmen freiwillig und im Einvernehmen mit den bestandsbetreuenden Tierärzten an dem Forschungsvorhaben teil. Als Grundvoraussetzungen für die Auswahl der Betriebe wurden die Teilnahme am QS-System und eine Betriebsgröße von mehr als 500 Mastplätzen festgelegt. Die Betriebe waren bayernweit verteilt, befanden sich jedoch produktionsbedingt mit Schwerpunkt in den Regierungsbezirken Schwaben und Niederbayern.

Bei einem Betrieb handelte es sich um einen geschlossenen Betrieb mit eigener Mast, die übrigen neun waren reine Mastbetriebe. Die aufgestellten Ferkel kamen entweder aus einer (geschlossenes System/ein Ferkelerzeuger) oder aus mehreren (zwei bis elf Ferkelerzeuger) Herkunft. Die Größe der Betriebe erstreckte sich von 720 bis zu 2800 Mastplätzen (Abbildung 1). Acht Betriebe stellten ihre Mastschweine in Kleingruppen von zehn bis 40 Tieren pro Bucht auf. Ein Mäster betrieb eine reine Großgruppenhaltung mit 450 Tieren je Abteil und in einem Betrieb wurden beide Haltungsformen durchgeführt. Sowohl die Probenentnahmen in den zehn Versuchsbetrieben, als auch die in den drei belieferten Schlachtbetrieben konnten vollständig und bis zum Abschluss der

Versuche durchgeführt werden, so dass die Ergebnisse aller Betriebe in die Auswertung mit einbezogen werden konnten. Allerdings konnten von den ursprünglich 600 Versuchstieren nur 545 bis zum Ende verfolgt werden. Die Datensätze der übrigen 55 Schweine wurden nicht ausgewertet, da sie aufgrund von Ohrmarkenverlust unvollständig waren.



**Abbildung 1: Verteilung der Betriebsgrößen**

### 3.3 Erfassung von Betriebsdaten

Mit Hilfe eines Fragebogens wurden Daten zu der allgemeinen Betriebsstruktur, der baulichen Gestaltung, der Fütterung, dem Hygienemanagement und der Tiergesundheit erhoben. Die so gewonnenen Informationen wurden statistisch ausgewertet und flossen mit in die Ergebnisse ein.

### 3.4 Durchführung der Probenentnahmen

Insgesamt wurden an 600 Mastschweinen drei Probendurchgänge durchgeführt. Davon erfolgten die Probenentnahmen zweimal im landwirtschaftlichen Betrieb und einmal am Schlachthof.

Im Rahmen der ersten Probenentnahme wurden pro Betrieb 60 Tiere einer Altersgruppe (40. bis 60. Masttag) zufällig ausgewählt. Diese bildeten eine



Versuchsgruppe und wurden mittels fortlaufend nummerierter Ohrmarken (Primaflex, Fa. Schippers GmbH, 47647 Kerken) gekennzeichnet, so dass bis zur Schlachtung eine eindeutige Identifizierung des Einzeltieres gewährleistet war. Im Anschluss an die Kennzeichnung wurden je Tier eine Blutprobe und ein Kottupfer entnommen.

Die zweite Probenentnahme fand innerhalb der letzten 14 Tage vor der Schlachtung statt und umfasste den gleichen Probenumfang, wie beim ersten Durchgang. Zusätzlich wurden jedoch alle Versuchstiere einer standardisierten klinischen Untersuchung unterzogen.

Aus den Blutproben sollten mittels ELISA Antikörper gegen *Salmonella* spp. und *Yersinia* spp. nachgewiesen werden. Mit den Kottupfern wurde ein direkter Erregernachweis auf *Salmonella* spp. und *Campylobacter* spp. mittels PCR durchgeführt (siehe Tabelle 1).

Bei dem abschließend am Schlachthof stattfindenden dritten Probendurchgang wurden je Schlachtkörper ein Oberflächentupfer und eine Fleischsaftprobe entnommen.

Die Fleischsaftproben wurden analog den Blutproben aus den ersten beiden Probendurchgängen auf Salmonellen- und Yersinien-Antikörper untersucht. Aus den Oberflächentupfern sollten *Campylobacter* spp. isoliert werden und mittels PCR nachgewiesen werden (siehe Tabelle 2).

### 3.4.1 Probenentnahme im landwirtschaftlichen Betrieb

**Tabelle 1: Probenplan für den Betrieb**

Erreger	Probenanzahl	Probenmaterial	Untersuchungsmethode
<i>Salmonella</i> spp.	60	Blutproben	ELISA
	60	Kottupfer	PCR
<i>Campylobacter</i> spp.	60	Kottupfer	PCR
<i>Yersinia</i> spp.	60	Blutproben	ELISA

#### **3.4.1.1 Blutproben**

Für den Nachweis von Antikörpern gegen *Salmonella* spp. und *Yersinia* spp. musste bei allen Versuchstieren Blut entnommen werden. Die Blutentnahme erfolgte aus der rechten V. jugularis externa, dazu wurden die Schweine mit einer Oberkieferschlinge fixiert und von einer Hilfsperson gehalten. Für die Blutprobenentnahmen wurden je Probe drei Serum (Z)-Primavetten (7,5 ml Primavette, KABE Labortechnik GmbH, 51588 Nümbrecht-Elsenroth) mit Einmalkanülen Sterican (1,10 x 50 mm der Fa. B. Braun Melsungen AG, 34209 Melsungen) oder Supra Einmalkanülen (1,20 x 75 mm der Fa. Ehrhardt Medizinprodukte GmbH, 73312 Geislingen) verwendet. In der Klinik für Schweine der LMU München wurde das Blut bei 3000 U/min, 4°C, 10 Minuten lang zentrifugiert. Das so gewonnene Serum wurde in zwei große (16 x 100 mm, Inhalt 12 ml, Rundboden, Polysterol) Zentrifugenröhrchen und ein kleines (12 x 55 mm, Rundboden, Polysterol) Zentrifugenröhrchen aufgeteilt. Bis zur weiteren Untersuchung wurde das Serum bei -22°C tiefgekühlt gelagert.

#### **3.4.1.2 Kottupfer**

Für den Nachweis von *Salmonella* spp. und *Campylobacter* spp. wurden sterile Abstrichbestecke mit Kunststoff-Watte-Träger und Cary-Blair-Transportmedium (Fa. Copan Italia S.p.A, Via F. Perotti 10, 25125 Brescia, Italien) verwendet. Dem mit der Oberkieferschlinge fixierten Versuchstier wurde der Tupfer rektal eingeführt und unter drehender Bewegung für ca. 1-2 Sekunden im Rektum belassen.

### 3.4.2 Probenentnahme am Schlachthof

**Tabelle 2: Probenplan für den Schlachthof**

Erreger	Probenanzahl	Probenmaterial	Untersuchungsmethode
<i>Salmonella</i> spp.	60	Fleischsaft	ELISA
<i>Campylobacter</i> spp.	60	Oberflächen-tupfer	PCR
<i>Yersinia</i> spp.	60	Fleischsaft	ELISA

#### 3.4.2.1 Fleischsaftproben

Der Nachweis von Antikörpern gegen *Salmonella* spp. und *Yersinia* spp. im Schlachtkörper erfolgte aus dem Fleischsaft. Die Entnahme der Fleischsaftproben fand am Schlachtband nach Halbierung der Tierkörper statt. Es wurde ein etwa 3 x 1 x 1 cm großes Stück Muskulatur aus einem der Zwerchfellpfeiler entnommen und in einen Fleischsaftbehälter (Salmostore®, Labor Diagnostik Leipzig, 04103 Leipzig, Deutschland) verbracht und bei -22 °C eingefroren. Der durch das Auftauen entstandene Fleischsaft wurde in Zentrifugenröhrchen (12 x 55 mm, Rundboden, Polysterol) überführt und anschließend serologisch untersucht.

#### 3.4.2.2 Oberflächentupfer

Für den Nachweis von *Campylobacter* spp. wurden sterile Abstrichbestecke mit Kunststoff-Watte-Träger und Cary-Blair-Transportmedium (Fa. Copan Italia S.p.A, 25125 Brescia, Italien) verwendet. Mit dem Tupfer wurde über die inneren Oberflächen (Pleura und Peritoneum) des unmittelbar zuvor gespaltenen Schlachtkörper gestrichen, bis dieser vollständig durchtränkt war.

### 3.5 Probentransport und Labore

Alle Proben wurden nach Entnahme und während des Transports zurück in die Klinik für Schweine der LMU München in einer Kühlbox gelagert. Die entnommenen Blutproben wurden im dortigen Labor abzentrifugiert. Das so

gewonnene Serum wurde zu Rückstellproben und Proben zur Untersuchung im LGL (Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit, 85764 Oberschleißheim) aufgeteilt. Für das LGL bestimmte Proben wurden in der Regel dort noch am Tag der Entnahme bearbeitet.

## **3.6 Angewandte Untersuchungsmethoden**

### **3.6.1 Diagnostik von Salmonellen**

#### **3.6.1.1 Diagnostik mittels ELISA**

Zum Nachweis von Antikörpern gegen *S. Typhimurium* und *S. Choleraesuis* wurde der SALMOTYPE<sup>®</sup> Pig Screen ELISA im Mikrotiterplattenformat der Firma Labor Diagnostik Leipzig (04103 Leipzig, Deutschland) verwendet.

Das Testsystem dient der quantitativen Bestimmung von Antikörpern gegen Salmonellen in Fleischsaft- oder Serumproben von Schweinen. Es werden Antikörper gegen die O-Antigene 1, 4, 5, 6, 7 und 12 erfasst. Die Mikrotiterplatte wird mit Salmonellenantigen beschichtet. Um eine Interpretation der Testergebnisse vornehmen zu können, werden sowohl Negativ- als auch Positivkontrollen mitgeführt. Die spezifischen Antikörper gegen Salmonellen bilden während der Inkubation der Probe in der beschichteten Vertiefung einen Komplex mit dem Antigen. Nichtgebundenes Antigen wird durch Waschen entfernt. Das hinzugefügte Antikörper-Enzymkonjugat bindet an die antigengebundenen Proben-Antikörper. Anschließend wird ungebundenes Konjugat herausgewaschen. Nach Zugabe der Enzymsubstrat-Chromogenlösung (TMP) erfolgt eine Farbreaktion durch das antikörpergebundene Enzym. Das Ausmaß der Farbentwicklung korreliert mit der Konzentration der anti-*Salmonella*-Antikörper in der Probe. Die Proben in den Mikrotiterplatten werden im Photometer bei 450 nm auf ihre optische Dichte (OD) untersucht. Der Proben-OD%-Wert errechnet sich nach der vom Hersteller angegebenen Formel unter Einbeziehung der Mittelwerte (MW) der gemessenen OD der Positiv- (PK) und Negativkontrollen (NK):

Proben-OD%-Wert =  $(OD_{\text{Probe}} - MW\ OD_{\text{NK}}) / (MW\ OD_{\text{PK}} - MW\ OD_{\text{NK}}) \times 72,1\ \text{OD}\%$

Die Bewertung erfolgte zum einen, wie vom Hersteller vorgeschlagen nach dem Vorbild der ersten Stufe des dänischen und deutschen Monitoring-Programmes, bei dem OD%-Werte von  $\geq 40$  als positiv galten. Zum Vergleich wurden die Ergebnisse auch nach dem zur Herdendiagnostik empfohlenen Schema eingeteilt, wobei OD%-Werte von  $\geq 20$  als positiv bewertet wurden.

### **3.6.1.2 Diagnostik mittels PCR**

Zum Nachweis der spezifischen DNA-Sequenzen von Salmonellen wurde eine real-time PCR durchgeführt. Die Kottupfer wurden im Verhältnis 1:10 in gepufferten Peptonwasser für 24 Stunden bei 37°C im Brutschrank inkubiert, um die vorhandenen Erreger anzureichern. Danach wurde 1 ml der Anreicherungslösung entnommen und erhitzt, um durch Denaturierung der Matrizen-DNA die Doppelstränge aufzuspalten. Die gesuchten DNA-Fragmente wurden, falls vorhanden, durch Zugabe von Taq-Polymerase, Primern, Basen und farblichen Sonden vervielfältigt und photometrisch die Konzentration ermittelt. Hierfür wurden real-time PCR Thermocycler (Fa. Agilent Technologies Inc. Headquarters, SantaClara CA95051, United States) verwendet.

## **3.6.2 Diagnostik von Campylobacter**

### **3.6.2.1 Diagnostik mittels PCR**

Zum Nachweis der spezifischen DNA-Sequenzen von *Campylobacter* spp. wurde eine real-time PCR durchgeführt. Sowohl die Kot-, als auch die Oberflächentupfer wurden im Verhältnis 1:10 in Preston-Anreicherungslösung für 48 Stunden bei 42°C im Brutschrank unter anaeroben Bedingungen in CO<sub>2</sub>-Atmosphäre inkubiert, um die vorhandenen Erreger anzureichern. Anschließend wurde 1 ml der Anreicherungslösung entnommen und erhitzt, um durch Denaturierung der Matrizen-DNA die Doppelstränge aufzuspalten. Die gesuchten DNA-Fragmente wurden, falls vorhanden, durch Zugabe von Taq-Polymerase, Primern, Basen und farblichen Sonden vervielfältigt und photometrisch die Konzentration ermittelt. Hierfür wurden real-time PCR Thermocycler (Fa. Agilent Technologies Inc. Headquarters, SantaClara CA95051, United States) verwendet.

### 3.6.3 Diagnostik von Yersinien

#### 3.6.3.1 Diagnostik mittels ELISA

Alle Serum- und Fleischsaftproben wurden mit dem kommerziell verfügbaren PIGTYPE® YOPSCREEN Pig ELISA (Labor Diagnostik Leipzig, 04103 Leipzig, Deutschland) untersucht.

Dieser isotypspezifische (IgG), indirekte Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) im Mikrotiterplattenformat bedient sich als Antigen vierer rekombinanter *Yersinia*-outer-proteins (Yops) des Referenzstammes DSM 13030 von *Y. enterocolitica* Bioserovar 4/O:3. Die verwendeten Yop-Antigene werden von allen Serotypen der pathogenen plasmidtragenden Stämme gebildet. Damit ist eine Detektion aller pathogenen Yersinien, einschließlich *Y. pseudotuberculosis* und *Y. pestis* möglich. Kreuzreaktionen mit apathogenen Stämmen und anderen Enterobakterien können ausgeschlossen werden. Die Mikrotiterplatte ist mit diesen spezifischen Yersinien-Antigenen beschichtet. Während der Probeninkubation binden *Yersinia*-spezifische Antikörper an die immobilisierten Antigene, nichtgebundenes Material wird durch Waschen entfernt. Die anschließende Detektion der gebundenen Antikörper erfolgt durch den Peroxidase-konjugierten Anti-Schwein-IgG-Antikörper. Ungebundenes Konjugat wird heraus gewaschen und die Farbreaktion durch Zugabe der Enzymsubstrat-Chromogenlösung (TMP) gestartet. Nach dem Stoppen der Reaktion wird die optische Dichte bei 450 nm im Photometer gemessen. Diese ist proportional zu der Konzentration der anti-*Yersinia*-Antikörper in der Probe. Der Proben-OD%-Wert errechnet sich nach der vom Hersteller angegebenen Formel unter Einbeziehung der Mittelwerte (MW) der gemessenen OD der Positiv- (PK) und Negativkontrollen (NK):

$$\text{Proben-OD\%-Wert} = (\text{OD}_{\text{Probe}} - \text{MW OD}_{\text{NK}}) / (\text{MW OD}_{\text{PK}} - \text{MW OD}_{\text{NK}}) \times 100$$

Die Beurteilung der Proben fand nach den Vorgaben des Herstellers statt. Proben mit einer Aktivität  $\geq 20$  OD% wurden als positiv beurteilt, d.h. es wurden spezifische Antikörper gegen pathogene Yersinien nachgewiesen.

## **3.7 Einteilung der Betriebe**

### **3.7.1 Einteilung nach Schweine-Salmonellen-VO**

Die Mastbetriebe wurden anhand der Ergebnisse der Salmonellen-Untersuchungen mittels ELISA, nach den gesetzlichen Bestimmungen der Schweine-Salmonellen-VO in drei Kategorien eingeteilt. OD%-Werte  $\geq 40$  galten als positives Ergebnis. Die Anzahl der entnommenen Proben je Betrieb entsprach denen der Schweine-Salmonellen-VO. Die positiven Ergebnisse wurden in Prozent der 60 pro Betrieb entnommenen Proben errechnet. Dieser Prozentsatz wurde dann in die entsprechenden Kategorien I-III eingeordnet. Kategorie I entsprach 1-20% positiven Ergebnissen, Kategorie II wurde bei 21-40% positiven Proben erreicht und in Kategorie III wurden Betriebe eingeteilt, deren Anteil positiver Proben bei  $>40\%$  lag. Zusätzlich wurde eine dem QS-System entsprechende „Kategorie 0“ berücksichtigt. Dieser „Kategorie 0“ entsprachen Betriebe, bei denen die Ergebnisse aller drei Probenentnahmen negativ waren. Zum Vergleich wurden die Ergebnisse noch mit dem cut-off von 20 OD% bewertet. Dieser cut-off entspricht dem vom Hersteller empfohlenen Wert für die Diagnostik auf Herdenebene.

### **3.7.2 Einführung eines Score-Punkte Systems zur Bewertung der Betriebsstruktur**

Die auf dem Betrieb erfassten Angaben zu der allgemeinen Betriebsstruktur, der baulichen Gestaltung, der Fütterung und dem Hygienemanagement wurden mit Score-Punkten bewertet (siehe Tabelle 3). Demnach wurden die verschiedenen Maßnahmen, die auf den Betrieben durchgeführt wurden nach ihrem möglichen Einfluss auf den Infektionsdruck und die Verbreitung von Krankheitserregern im Betrieb gewichtet. Maßnahmen, die einen erwartet stärkeren Einfluss auf die Tiergesundheit hatten, wurden mit einer höheren Anzahl von Punkten bewertet, als möglicherweise weniger einflussreiche Maßnahmen. Für Faktoren, die erwartungsgemäß zur Übertragung beitrugen,

anstelle zu verhindern, wurden Punkte abgezogen. Daraus ergab sich für jeden Betrieb eine Gesamtpunktzahl, die dann auf Korrelationen mit dem Gesundheitsstatus der Betriebe hin untersucht wurde.

**Tabelle 3: Scorepunkteverteilung für die Betriebsstruktur**

Bereich	Faktoren	Punkte
Anzahl Ferkelbezug	1 Herkunft	2
	>1 Herkunft	-2
Hygieneschleuse	Dusche oder schwarz/ weiß	2
	Umkleideraum ohne schwarz/ weiß	1
	kein Umkleideraum	0
Personen mit Tierkontakt	1-2	1
	>2	-1
Schadnagerbekämpfung	Ja	2
	nein	-2
Aufstallung	Vollspalten	1
	Teilspalten	0
Reinigung und Desinfektion	Reinigung und Desinfektion	2
	nur Reinigung	1
	weder noch	-2
Stall steht leer vor Neueinstellung	>1d	2
	1d	0
	nein	-2
Belegung	kontinuierlich	-2
	rein-raus	2
stabile Gruppen	ja	2
	nein	-2



### 3.8 Statistische Auswertung

Die deskriptive Statistik wurde mit Microsoft Excel (2007) erstellt. Die statistischen Analysen und deskriptiven Grafiken wurden unter der frei verfügbaren Statistiksoftware „R“, Version 2.10.1 durchgeführt. Die Haupt-Analysen waren das Auffinden von Wirkungszusammenhängen einzelner Einflussgrößen auf die verschiedenen Zielvariablen. Diese wurden auf Individuen-Basis mit generalisierten linearen Modellen (GLMs) und auf Betriebsebene zum Nachweis betriebsbedingter Effekte mit generalisierten linearen gemischten Modellen (GLMMs) gerechnet. Die unterschiedlichen Erklärungsgüten der Einflussgrößen auf die Zielvariablen wurden mit Akaikes Informations-Kriterium (AIC) verglichen. Die Signifikanz der geschätzten Regressions-Parameter wurde mit Score-Tests zum Signifikanzniveau 0,05 getestet. Die statistische Auswertung der Daten fand mit Hilfe des STABLAB (Statistisches Beratungslabor, Institut für Statistik, LMU München) statt.

## 4 Ergebnisse

Die Anzahl der Versuchstiere lag bei 600 untersuchten Schweinen verteilt auf zehn Versuchsgruppen à 60 Tiere. Ausgewertet wurden nach Abschluss der Versuche die Daten von 545 Tieren. Aufgrund ihrer Unvollständigkeit flossen die Daten der übrigen 55 Schweine nicht in die Auswertung mit ein.

Alle 545 Tiere wurden im Rahmen von drei Untersuchungsdurchgängen beprobt. Dabei fanden die ersten beiden Probenentnahmen (PE) im landwirtschaftlichen Betrieb am lebenden Schwein statt. Die dritte Probenentnahme wurde im Schlachthof am halbierten Schlachtkörper durchgeführt.

Die Zeitpunkte der Probenentnahmen wurden vorab festgelegt. Die erste Beprobung erfolgte zwischen dem 40. und 60. Masttag. Die zweite Probenentnahme fand innerhalb von 14 Tagen vor dem Schlachttermin statt, gefolgt vom dritten Untersuchungsdurchgang unmittelbar nach der Schlachtung.

### 4.1 Salmonellen

#### 4.1.1 Erfassung des Betriebsstatus mittels ELISA

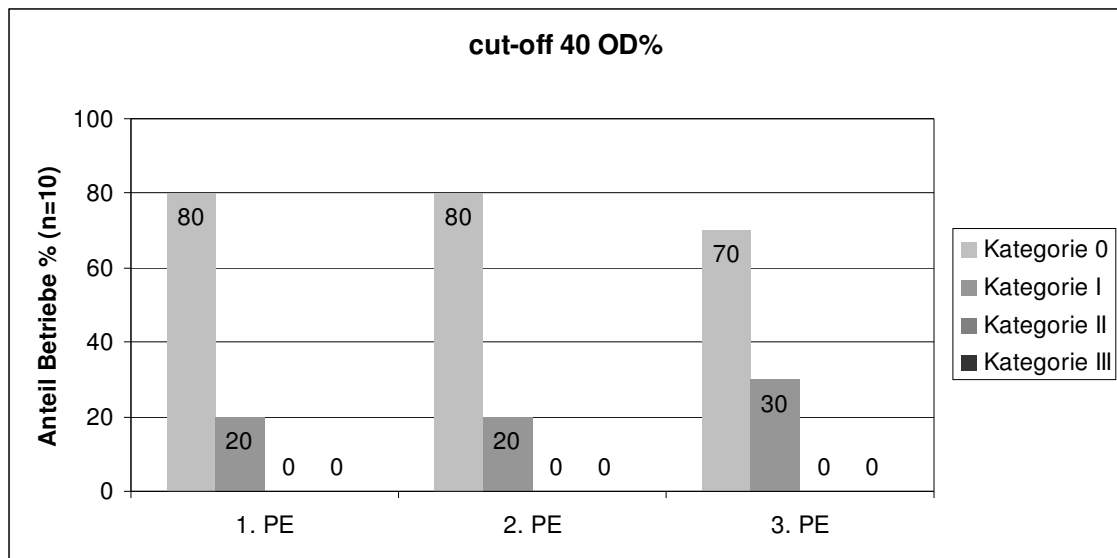
Wie in Tabelle 4 dargestellt wurden in den drei Untersuchungsdurchgängen jeweils dieselben Schweine (n=545) von zehn Betrieben serologisch mittels ELISA auf *Salmonella* spp. untersucht.

**Tabelle 4: Nachweis *Salmonella* spp. (ELISA)**

Be- trieb	Anzahl Proben	1. Probenentnahme (Serum)		2. Probenentnahme (Serum)		3. Probenentnahme (Fleischsaft)	
		n ≥20 OD% (%)	n ≥40 OD% (%)	n ≥20 OD% (%)	n ≥40 OD% (%)	n ≥20 OD% (%)	n ≥40 OD% (%)
<b>A</b>	56	2 (3,6)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	7 (12,5)	0 (0,0)
<b>B</b>	56	2 (3,6)	0 (0,0)	3 (5,4)	0 (0,0)	13 (23,2)	1 (1,8)
<b>C</b>	51	1 (2,0)	0 (0,0)	4 (7,8)	0 (0,0)	6 (11,8)	0 (0,0)
<b>D</b>	59	3 (5,1)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (1,7)	0 (0,0)
<b>E</b>	59	3 (5,1)	0 (0,0)	1 (1,7)	0 (0,0)	2 (3,4)	0 (0,0)
<b>F</b>	56	3 (5,4)	0 (0,0)	3 (5,4)	0 (0,0)	6 (10,7)	0 (0,0)
<b>G</b>	55	8 (14,5)	2 (3,6)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
<b>H</b>	50	14 (28,0)	3 (6,0)	7 (14,0)	1 (2,0)	17 (34,0)	4 (8,0)
<b>I</b>	53	1 (1,9)	0 (0,0)	5 (9,4)	1 (1,9)	6 (11,3)	1 (1,9)
<b>K</b>	50	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (2,0)	0 (0,0)	1 (2,0)	0 (0,0)
<b>Ges.</b>	<b>545</b>	<b>37 (6,8)</b>	<b>5 (0,9)</b>	<b>24 (4,4)</b>	<b>2 (0,4)</b>	<b>59 (10,8)</b>	<b>6 (1,1)</b>

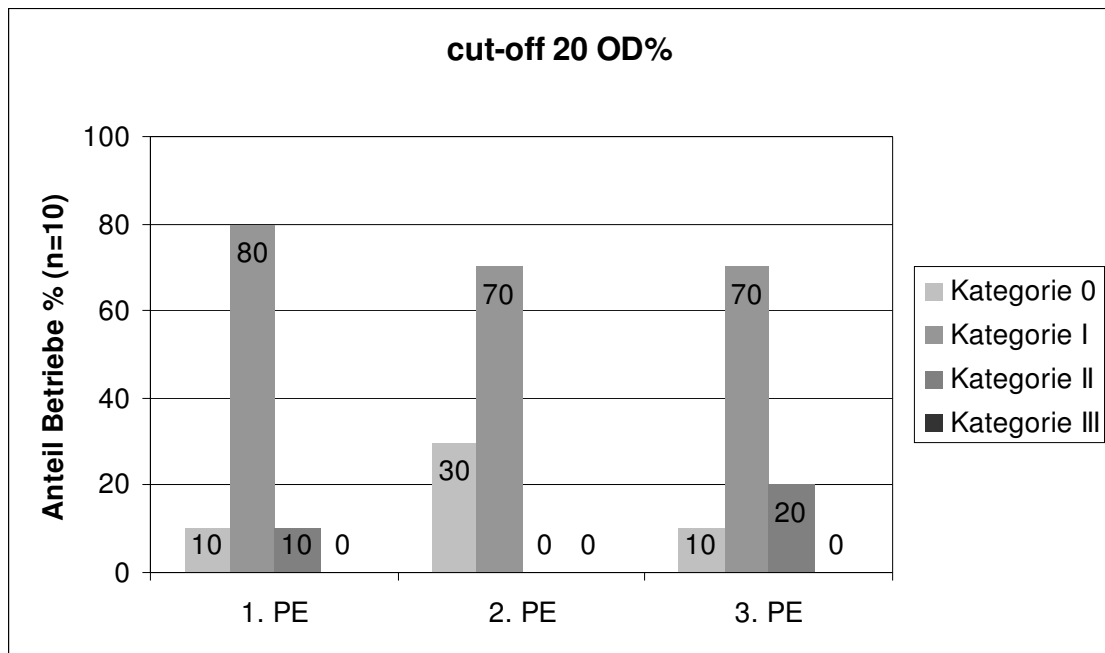
Die Einteilung der Ergebnisse erfolgte nach den Vorgaben des Herstellers bzw. der Schweine-Salmonellen-VO in drei Kategorien (Kategorie I: 0-20%, Kategorie II: >20-40%, Kategorie III: >40% positive Proben). Betriebe, bei denen in keiner der insgesamt 60 Proben Salmonellen-Antikörper nachgewiesen werden konnten, wurden in eine zusätzliche „Kategorie 0“ eingeteilt. Es wurde zum einen nach dem wissenschaftlich cut-off  $\geq 20$  OD% und zum anderen nach dem gesetzlichen cut-off  $\geq 40$  OD% eingeteilt.

Bei Anwendung des cut-off  $\geq 40$  OD% (siehe Abbildung 2) konnten im ersten Untersuchungsdurchgang acht Betriebe in die „Kategorie 0“ eingeteilt werden. Zwei Betriebe befanden sich in Kategorie I. Bei der zweiten Probenentnahme kam es zur gleichen prozentualen Verteilung in der Kategorisierung der Betriebe, allerdings wechselten zwei Betriebe den Status. Im Rahmen des dritten Durchganges änderte ein Betrieb den Salmonellenstatus. Bei drei Betrieben erfolgte eine Einteilung in Kategorie I. Alle übrigen Betriebe wurden in „Kategorie 0“ eingeteilt. Kein Betrieb wurde in Kategorie II oder III eingestuft.



**Abbildung 2: Einteilung der Betriebe in Kategorien aufgrund des Nachweises von Salmonellenantikörpern (cut-off  $\geq 40$  OD%)**

Wurde der cut-off  $\geq 20$  OD% angewandt (siehe Abbildung 3), so befand sich bei der ersten Probenentnahme ein Betrieb in „Kategorie 0“. In Kategorie I wurden acht und in Kategorie II ein Betrieb eingeteilt. Im Verlauf der zweiten Probenentnahme fand bei drei Betrieben eine Einteilung in „Kategorie 0“ statt. Die restlichen sieben Betriebe wurden in Kategorie I eingestuft. Es kam bei der Hälfte der Betriebe zu einer Änderung der Kategorisierung. Im Rahmen des dritten Untersuchungsdurchganges erfolgte bei einem Betrieb die Einteilung in „Kategorie 0“. Sieben Betriebe wurden der Kategorie I und zwei der Kategorie II zugeordnet. Bei keinem Betrieb erfolgte die Einteilung in Kategorie III. Bei vier Betrieben änderte sich der Salmonellenstatus.

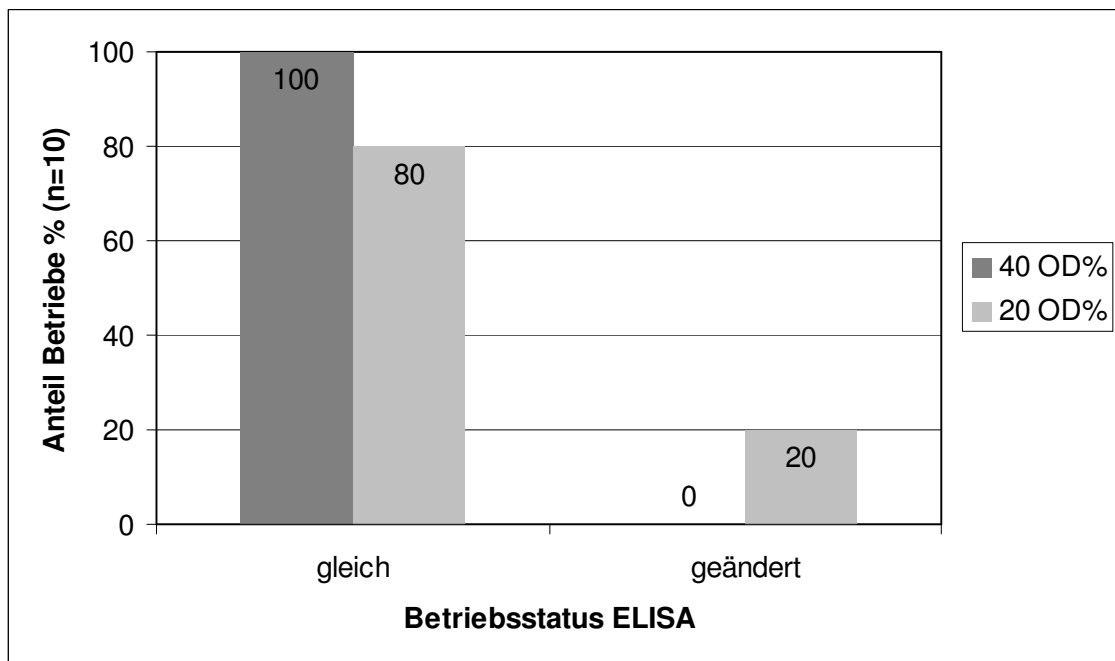


**Abbildung 3: Einteilung der Betriebe in Kategorien aufgrund des Nachweises von Salmonellenantikörpern (cut-off  $\geq 20$  OD%)**

#### 4.1.2 Veränderung des Betriebsstatus (ELISA)

In Abhängigkeit des angewandten cut-off veränderte sich der Salmonellenstatus der Betriebe über den Beprobungszeitraum unterschiedlich stark (siehe Abbildung 4). Insgesamt konnten bei einem cut-off  $\geq 20$  OD% vier Betriebe in drei Untersuchungsdurchgängen ihren Betriebsstatus beibehalten. Wurde der cut-off  $\geq 40$  OD% angewandt waren es sechs Betriebe.

Lässt man die zusätzliche „Kategorie 0“ weg und kategorisiert nach Vorgabe der Schweine-Salmonellen-VO kommt man zu folgenden Ergebnissen. Bei einem cut-off  $\geq 40$  OD% wurden alle Betriebe in Kategorie I eingeteilt und der Salmonellenstatus veränderte sich während des Beprobungszeitraumes nicht. Erfolgte die Einteilung dagegen nach cut-off  $\geq 20$  OD%, so behielten acht Betriebe die Kategorie I über den gesamten Probenzeitraum bei und zwei veränderten sich. Der eine Betrieb wechselte seinen Status zwischen zweiter und dritter Probenentnahme von Kategorie I zu II. Der Andere befand sich bei der ersten Beprobung in Kategorie II, wechselte bei der zweiten Untersuchung in Kategorie I und wurde bei der dritten Probenentnahme erneut in Kategorie II eingestuft.



**Abbildung 4: Änderung des Salmonellenstatus in Abhängigkeit des gewählten cut-off**

#### 4.1.3 Erfassung des Betriebsstatus mittels PCR

In den ersten beiden Untersuchungsdurchgängen wurden von allen Tieren (n=545) Kottupfer entnommen und mittels real-time PCR auf *Salmonella* spp. untersucht. Im Falle des Erregernachweises aus mindestens einer Probe erhielt der betroffene Betrieb den Status Salmonellen-positiv.

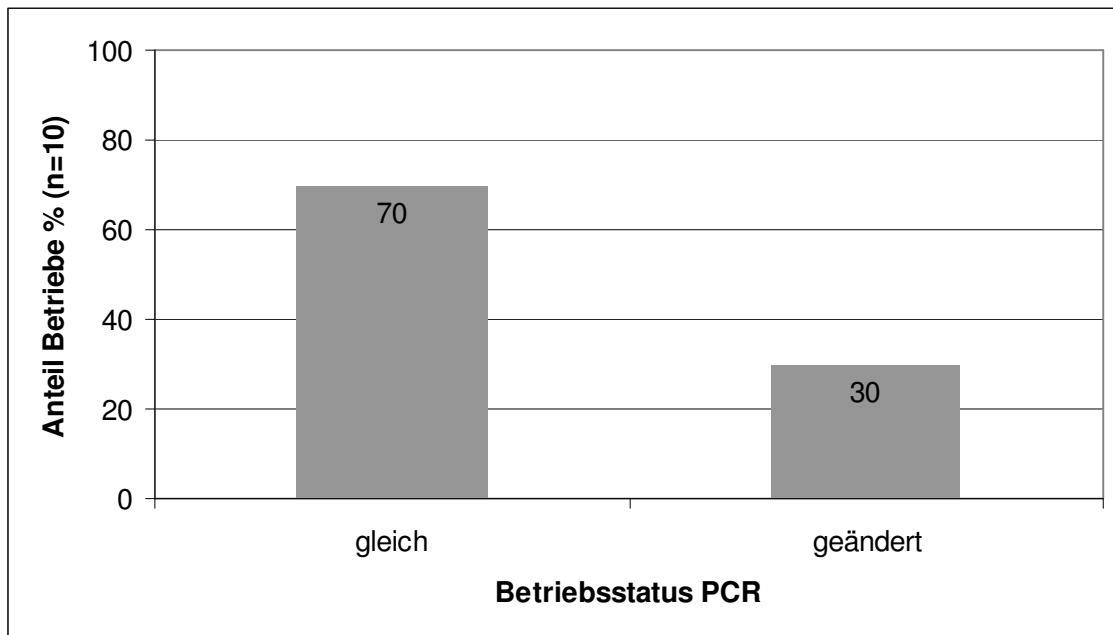
Wie in Tabelle 5 dargestellt, konnten bei der ersten Probenentnahme in einer Probe (1,8%) des Betriebes A *Salmonella* spp. nachgewiesen werden. In den übrigen neun Betrieben konnten keine Erreger direkt nachgewiesen werden. Infolgedessen erhielt Betrieb A einen positiven, alle anderen einen negativen Status. Bei der zweiten Probenentnahme wurden in den Betrieben I und K zwei (3,8%) bzw. drei (6,0%) Proben positiv getestet. Die restlichen acht Betriebe waren negativ.

**Tabelle 5: Vergleich Nachweismethoden *Salmonella* spp.**

Be- trieb	Anzahl Tiere	1. Probenentnahme						2. Probenentnahme					
		ELISA (Serum)				PCR (Kottupfer)		ELISA (Serum)				PCR (Kottupfer)	
		n ≥20 OD%	(%)	n ≥40 OD%	(%)	n	(%)	n ≥20 OD%	(%)	n ≥40 OD%	(%)	n	(%)
<b>A</b>	56	2	(3,6)	0	(0,0)	1	(1,8)	0	(0,0)	0	(0,0)	0	(0,0)
<b>B</b>	56	2	(3,6)	0	(0,0)	0	(0,0)	3	(5,4)	0	(0,0)	0	(0,0)
<b>C</b>	51	1	(2,0)	0	(0,0)	0	(0,0)	4	(7,8)	0	(0,0)	0	(0,0)
<b>D</b>	59	3	(5,1)	0	(0,0)	0	(0,0)	0	(0,0)	0	(0,0)	0	(0,0)
<b>E</b>	59	3	(5,1)	0	(0,0)	0	(0,0)	1	(1,7)	0	(0,0)	0	(0,0)
<b>F</b>	56	3	(5,4)	0	(0,0)	0	(0,0)	3	(5,4)	0	(0,0)	0	(0,0)
<b>G</b>	55	8	(14,5)	2	(3,6)	0	(0,0)	0	(0,0)	0	(0,0)	0	(0,0)
<b>H</b>	50	14	(28,0)	3	(6,0)	0	(0,0)	7	(14,0)	1	(2,0)	0	(0,0)
<b>I</b>	53	1	(1,9)	0	(0,0)	0	(0,0)	5	(9,4)	1	(1,9)	2	(3,8)
<b>K</b>	50	0	(0,0)	0	(0,0)	0	(0,0)	1	(2,0)	0	(0,0)	3	(6,0)
<b>Ges.</b>	<b>545</b>	<b>37</b>	<b>(6,8)</b>	<b>5</b>	<b>(0,9)</b>	<b>1</b>	<b>(0,2)</b>	<b>24</b>	<b>(4,4)</b>	<b>2</b>	<b>(0,4)</b>	<b>5</b>	<b>(0,9)</b>

#### 4.1.4 Veränderung des Betriebsstatus (PCR)

Sieben Betriebe behielten ihren Status Salmonellen-negativ bei und drei wechselten den Status (siehe Abbildung 5). Betrieb A wechselte von positiv in der ersten zu negativ in der zweiten Probenentnahme. Bei den Betrieben I und K verhielt es sich umgekehrt, ihr Betriebsstatus wechselte von negativ zu positiv.



**Abbildung 5: Veränderung Betriebsstatus Salmonellen PCR**

#### 4.1.5 Betriebsstatus im Vergleich: ELISA und PCR

Wie bereits vergleichend in Tabelle 5 dargestellt, wurde zusätzlich zu den serologischen Untersuchungen auf *Salmonella* spp. bei der ersten und zweiten Probenentnahme der bakteriologische Nachweis mittels PCR aus Kottupfern geführt.

In den folgenden Kreuztabellen sind die ELISA- und PCR-Ergebnisse der ersten und zweiten Probenentnahme getrennt nach cut-off  $\geq 20$  OD% und  $\geq 40$  OD% vergleichend dargestellt. Mittels Kappa-Testes wurden mögliche Übereinstimmungen berechnet und aufgezeigt. Dabei zeigt  $\kappa > 0,60$  eine gute,  $\kappa > 0,80$  eine exzellente Übereinstimmung (jenseits des Zufalls) an.

Im Zuge der ersten Probenentnahme wurde ein Betrieb in der PCR positiv auf *Salmonella* spp. getestet. Bei der Einteilung nach cut-off  $\geq 20$  OD% war dieser Betrieb auch in der Serologie positiv. Wendete man den cut-off  $\geq 40$  OD% an war der Betrieb jedoch serologisch negativ. Bei den übrigen neun Betrieben gelang kein direkter Erregernachweis mittels PCR. Nach cut-off  $\geq 40$  OD% waren sieben von ihnen serologisch negativ und zwei positiv. Dagegen war bei einer Einteilung nach cut-off  $\geq 20$  OD% nur einer der neun Betriebe serologisch



und bakteriologisch negativ. Die restlichen acht waren alle serologisch positiv und in der PCR negativ (siehe Tabelle 6).

**Tabelle 6: Vergleich von ELISA und PCR für die 1. Probenentnahme eingeteilt nach cut-off  $\geq 20$  OD% (a) und cut-off  $\geq 40$  OD% (b)**

a

cut-off $\geq 20$ OD%	ELISA positiv	ELISA negativ	
PCR positiv	1	0	n=1
PCR negativ	8	1	n=9
	n=9	n=1	n=10

 $\kappa=0,024$ 

b

cut-off $\geq 40$ OD%	ELISA positiv	ELISA negativ	
PCR positiv	0	1	n=1
PCR negativ	2	7	n=9
	n=2	n=8	n=10

 $\kappa=-0,154$ 

Bei der zweiten Probenentnahme wurden auf zwei Betrieben mittels PCR Salmonellen nachgewiesen. Der eine Betrieb war bei Einteilung mittels cut-off  $\geq 40$  OD% serologisch negativ, aber nach dem cut-off  $\geq 20$  OD% positiv. Der andere Betrieb war bei beiden cut-off Werten serologisch positiv. Von den verbliebenen acht in der PCR negativ getesteten Betrieben waren drei auch serologisch negativ. Die übrigen fünf waren serologisch alle nach cut-off  $\geq 20$  OD% positiv und einer zusätzlich auch nach cut-off  $\geq 40$  OD% (siehe Tabelle 7).

**Tabelle 7: Vergleich von ELISA und PCR für die 2. Probenentnahme eingeteilt nach cut-off  $\geq 20$  OD% (a) und cut-off  $\geq 40$  OD% (b)**

a

cut-off $\geq 20$ OD%	ELISA positiv	ELISA negativ	
PCR positiv	2	0	n=2
PCR negativ	5	3	n=8
	n=7	n=3	n=10

 $\kappa=0,194$ 

b

cut-off $\geq 40$ OD%	ELISA positiv	ELISA negativ	
PCR positiv	1	1	n=2
PCR negativ	1	7	n=8
	n=2	n=8	n=10

 $\kappa=0,375$

Wie in den Kreuztabellen dargestellt konnten weder bei der ersten noch bei der zweiten Probenentnahme Übereinstimmungen zwischen den Betriebseinteilungen nach ELISA- und PCR-Ergebnissen festgestellt werden. Dabei spielte auch die Veränderung des cut-off im Rahmen der Beurteilung der ELISA-Ergebnisse keine Rolle.

#### **4.1.6 Zusammenhänge zwischen den Probenentnahmen**

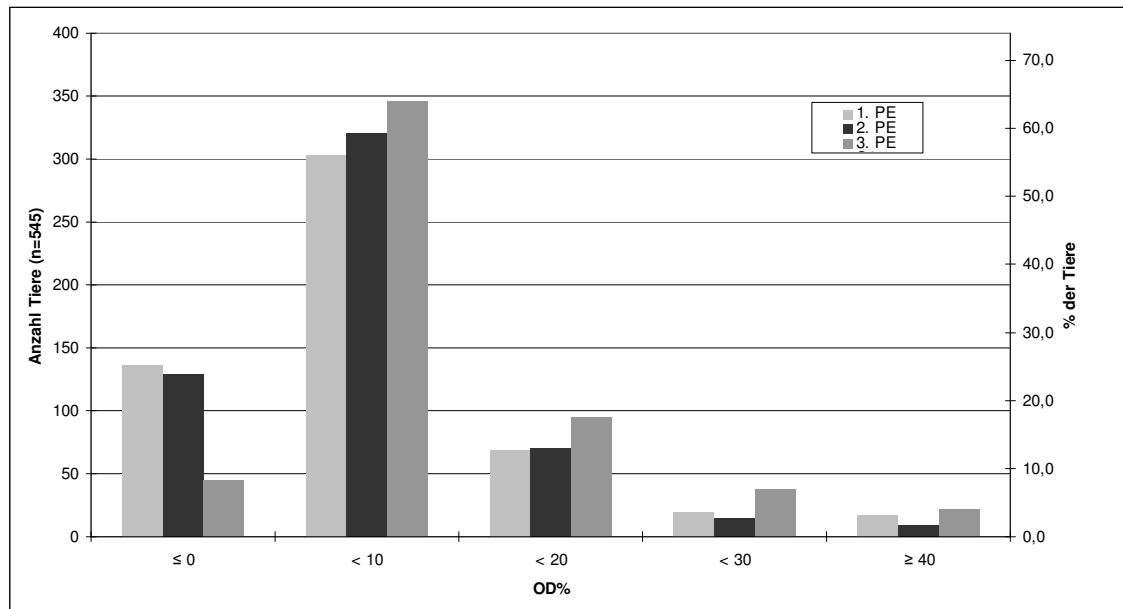
Im Folgenden werden mögliche Korrelationen zwischen den Ergebnissen der drei Probenentnahmen sowohl auf Einzeltier- als auch auf Betriebsebene dargestellt.

Die Analyse erfolgte durch (generalisierte lineare) gemischte Modelle. Dabei werden zu jeder Einflussgrößen-Zielvariablen-Kombination sechs verschiedene Modelle (a-f) angepasst. Die Modellwahl, als Entscheidung welches Modell den besten Kompromiss zwischen guter Anpassung an die Daten und geringer Modell-Komplexität liefert, wird über den AIC (Akaike's Information Criterion) vollzogen. Dabei wird das Modell bevorzugt, welches bei gleicher Zielgröße den kleinsten AIC liefert.

Aufgrund der geringen Nachweisrate mittels PCR waren keine sinnvollen Berechnungen möglich. Daher beziehen sich die nachfolgenden Berechnungen ausschließlich auf die ELISA-Ergebnisse.

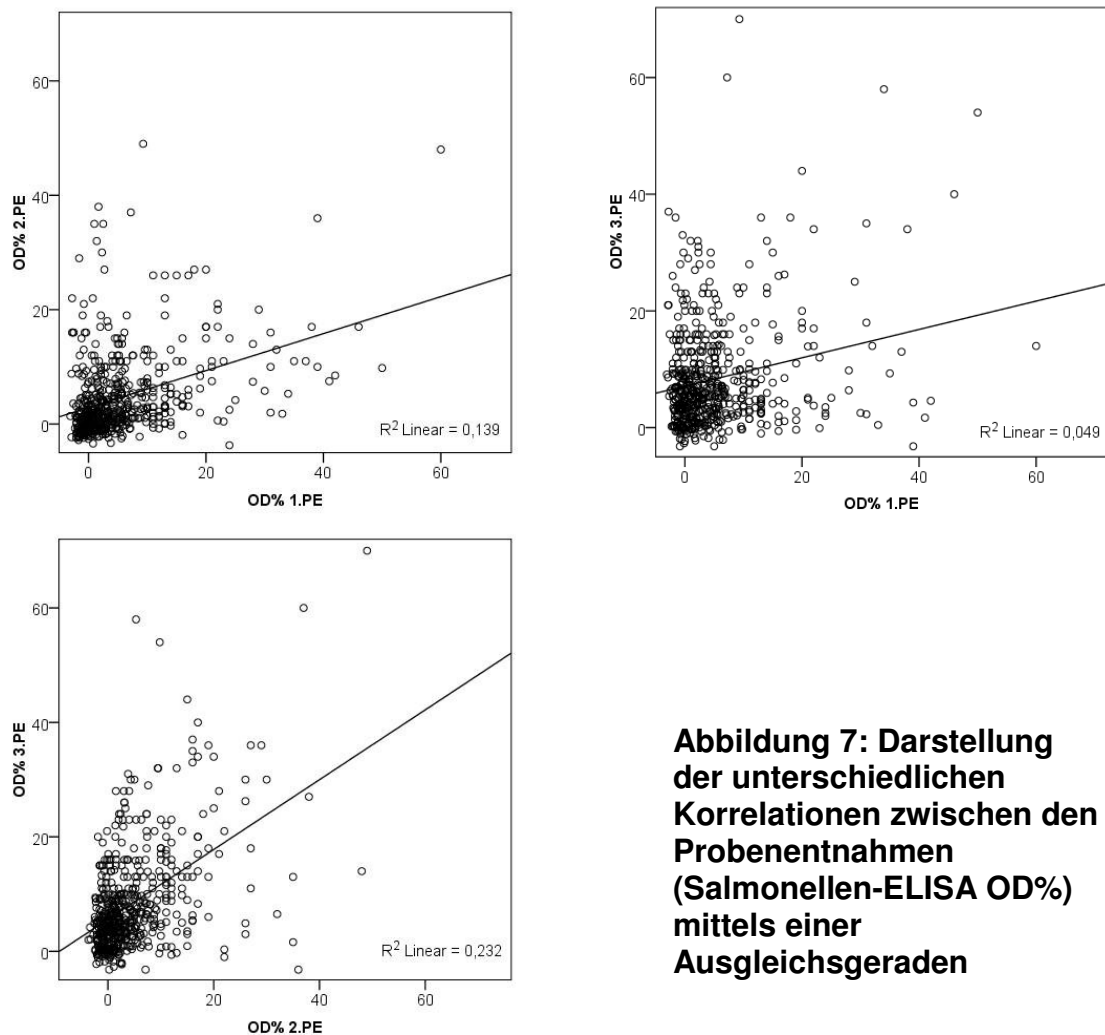
#### 4.1.6.1 Einzeltierebene

In Abbildung 6 ist die Verteilung der ELISA OD%-Werte aller Tiere in den einzelnen Probenentnahmen dargestellt.



**Abbildung 6: Vergleichende Verteilung der ELISA-Ergebnisse (*Salmonella* spp.) aller Probenentnahmen ohne Berücksichtigung eines cut-off**

Auf Basis dieser Daten wurden alle drei Probenentnahmen miteinander verglichen und in Abbildung 7 dargestellt. Die Berechnungen ergaben, dass grundsätzlich alle Probenentnahmen signifikant positiv korrelierten.



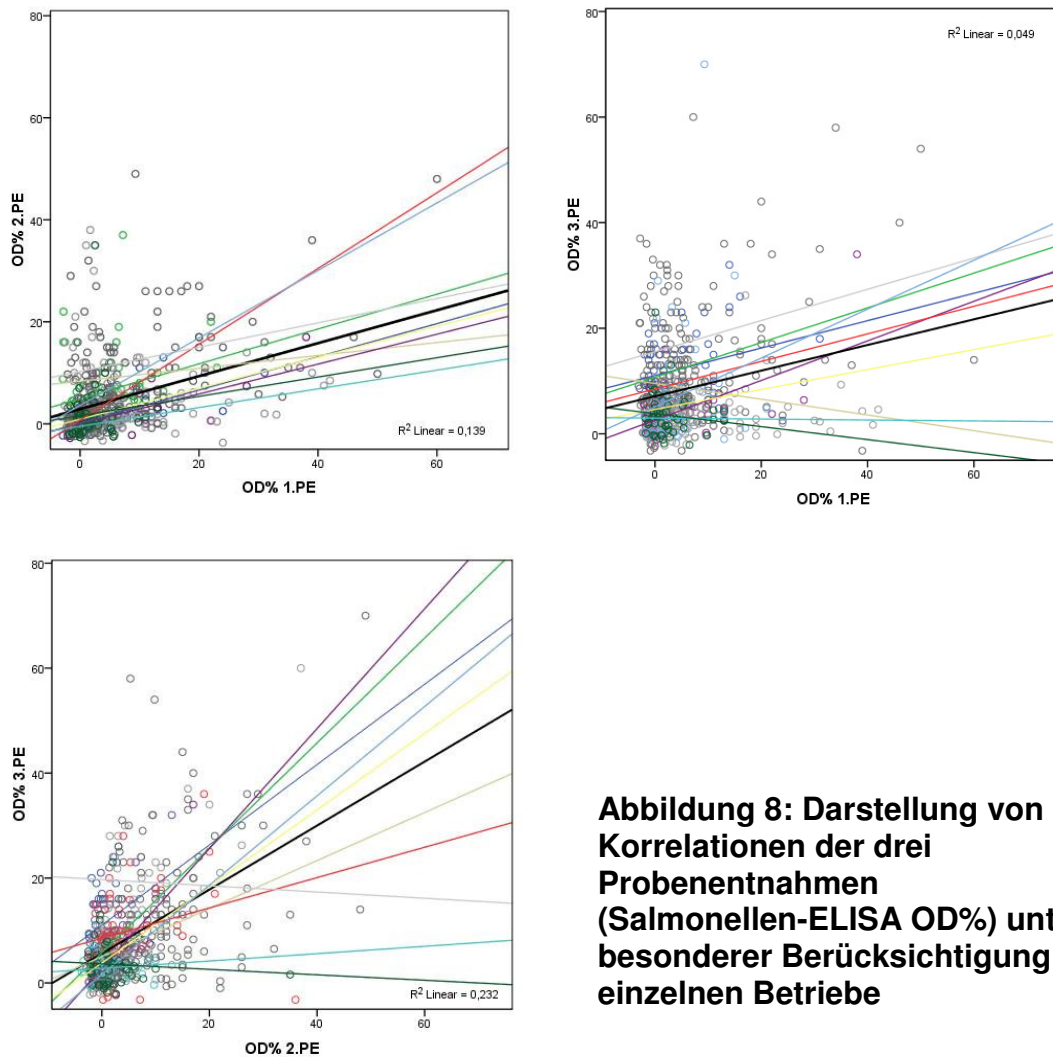
**Abbildung 7: Darstellung der unterschiedlichen Korrelationen zwischen den Probenentnahmen (Salmonellen-ELISA OD%) mittels einer Ausgleichsgeraden**

Die deutlichste Korrelation bestand mit  $R^2=0,232$  und  $p<0,0001$  zwischen der zweiten und dritten Probenentnahme.

#### 4.1.6.2 Betriebsebene

Die Ergebnisse der Probenentnahmen wurden unter Berücksichtigung der jeweiligen Betriebszugehörigkeit miteinander verglichen und in

Abbildung 8 dargestellt. Dabei ist jedem Betrieb eine der dünnen Geraden zugeordnet.



**Abbildung 8: Darstellung von Korrelationen der drei Probenentnahmen (Salmonellen-ELISA OD%) unter besonderer Berücksichtigung der einzelnen Betriebe**

Es wurde für jeden Vergleich ein AIC ermittelt. Aufgrund des niedrigsten AIC wurde ersichtlich, dass die erste und zweite Messung (AIC=3520,39) am deutlichsten korrelieren. Beim Vergleich von erster (AIC=3841,02) und zweiter (AIC=3736,05) Probenentnahme als Einflussgröße mit dritter Probenentnahme als Zielgröße wurde berechnet, dass die zweite Messung stärker mit der dritten korreliert.

Es ist jedoch zu beachten, dass es in allen drei Vergleichen immer einige Betriebe gab, deren Ausgleichsgeraden eine signifikant höhere oder niedrigere Steigung hatten als die allgemeine Ausgleichsgerade.

## 4.2 Campylobacter

### 4.2.1 Befunde im Betrieb

Es wurden pro Probendurchgang bei 545 Tieren Kottupfer entnommen und auf *Campylobacter* spp. untersucht. Die verwendete real-time PCR unterschied die Spezies *C. coli*, *C. jejuni* und *C. lari*. Die Ergebnisse der eigenen Untersuchung sind in Tabelle 8 dargestellt. *C. lari* konnte in keiner Probe nachgewiesen werden. *C. jejuni* konnte im ersten Probendurchgang auf zwei Betrieben aus einer\* (1,7%) bzw. zwei\*\* (3,4%) Proben isoliert werden. Bei diesen Proben lagen jeweils Koinfektionen mit *C. coli* vor. Im zweiten Durchgang konnte *C. jejuni* in keinem der Betriebe nachgewiesen werden. Der Nachweis von *C. coli* gelang sowohl im ersten als auch im zweiten Probendurchgang in allen zehn Betrieben. Bei der ersten Probenentnahme lag der Anteil der positiven Proben in den jeweiligen Betrieben zwischen 96,4% und 100%. Im zweiten Durchgang gelang der Erregernachweis aus 100% der Proben.

**Tabelle 8: Nachweis *Campylobacter* spp. (PCR)**

Be- trieb	Anzahl Proben	1. Probenentnahme (Kottupfer)		2. Probenentnahme (Kottupfer)		3. Probenentnahme (Oberflächentupfer)	
		PCR positiv	(%)	PCR positiv	%	PCR positiv	%
<b>A</b>	56	56	(100)	56	(100)	6	(10,7)
<b>B</b>	56	56	(100)	56	(100)	6	(10,7)
<b>C</b>	51	51	(100)	51	(100)	13	(25,5)
<b>D</b>	59	59*	(100)	59	(100)	13	(22,0)
<b>E</b>	59	59**	(100)	59	(100)	3	(5,1)
<b>F</b>	56	54	(96,4)	56	(100)	4	(7,1)
<b>G</b>	55	55	(100)	55	(100)	9	(16,4)
<b>H</b>	50	50	(100)	50	(100)	8	(16,0)
<b>I</b>	53	53	(100)	53	(100)	34	(64,2)
<b>K</b>	50	50	(100)	50	(100)	27	(54,0)
<b>Ges.</b>	<b>545</b>	<b>543</b>	<b>(99,6)</b>	<b>545</b>	<b>(100)</b>	<b>123</b>	<b>(22,6)</b>

#### 4.2.2 Befunde am Schlachthof

Geschlachtet wurde in drei verschiedenen Schlachthöfen und immer alle Tiere einer Versuchsgruppe zusammen. Die Wahl des Schlachthofes war den Landwirten bzw. deren Vermarktern überlassen. Anstatt Kottupfer wurden Oberflächentupfer von der Schlachtkörperinnenfläche genommen. Die verwendete real-time PCR zum Nachweis von *Campylobacter* spp. war analog der in den beiden vorherigen Probenentnahmen.

*C. lari* und *C. jejuni* konnten in keiner der Proben nachgewiesen werden. Der Nachweis von *C. coli* gelang aus Tieren aller zehn Versuchsbetriebe. Die Nachweishäufigkeit pro Betrieb variierte zwischen 5,1% und 64,2% der Proben (siehe Tabelle 8).

In Abbildung 9 ist der Vergleich der drei Schlachthöfe in Bezug auf die durchschnittliche Nachweisrate von *C. coli* auf der Schlachtkörperoberfläche dargestellt. Das Ergebnis für Schlachthof 2 ist der Vollständigkeit halber mit aufgeführt, obwohl dort lediglich ein Betrieb mit 55 Tieren beprobt wurde. In den folgenden Berechnungen wurde dieser Schlachthof nicht mehr berücksichtigt.

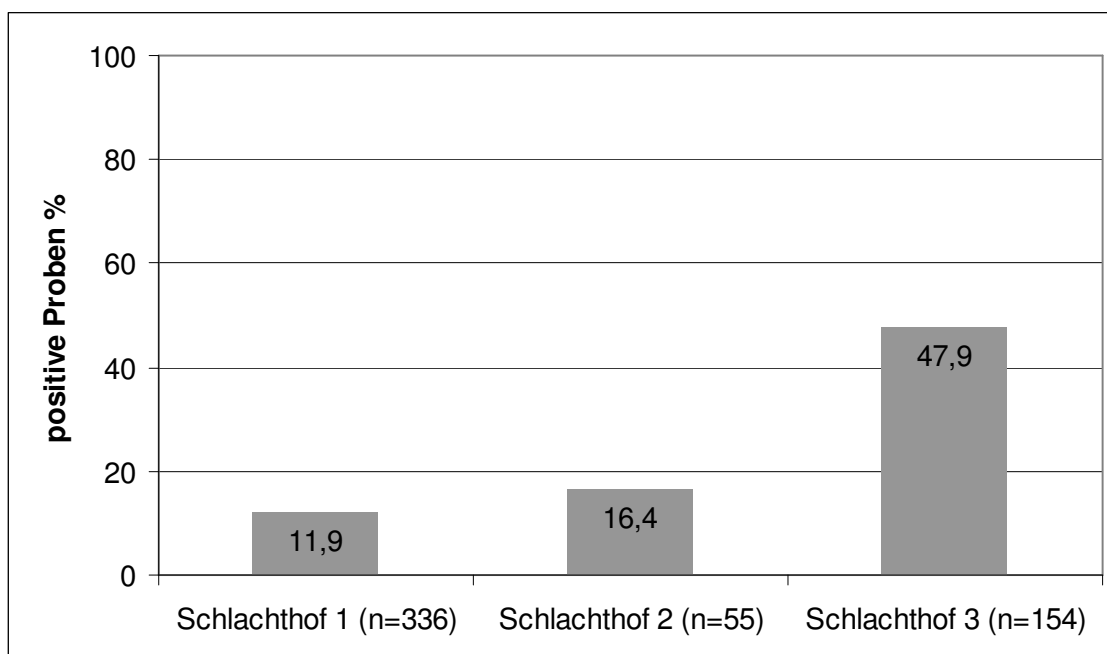
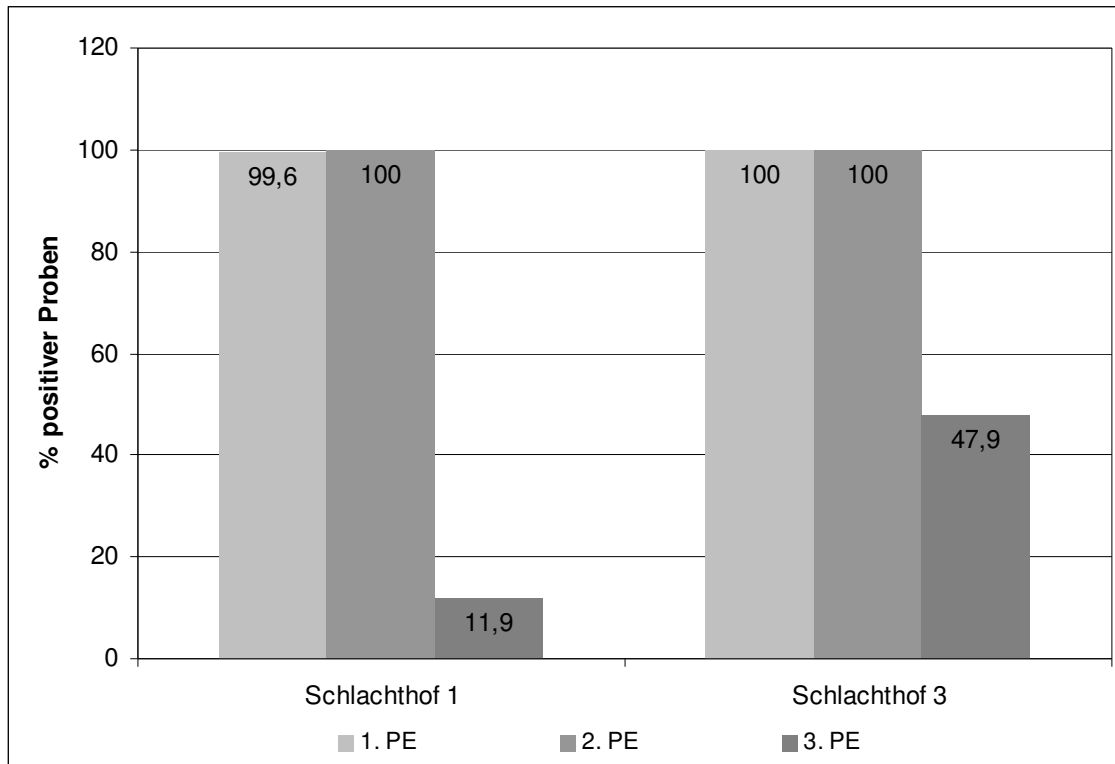


Abbildung 9: Nachweis von *C. coli* in Abhängigkeit vom Schlachthof

In Abbildung 10 ist der gesamte Verlauf des Nachweises von *Campylobacter* spp. der an Schlachthof 1 (n=336) und 3 (n=154) geschlachteten Tiere dargestellt.



**Abbildung 10: Verlauf der Nachweisrate von *Campylobacter* spp. der an Schlachthof 1 und 3 geschlachteten Schweine**

Das Aufzeigen möglicher Zusammenhänge zwischen den Ergebnissen der beiden ersten Probenentnahmen und den Ergebnissen an den Schlachthöfen erfolgte mittels Berechnung durch generalisierte lineare gemischte Modelle. Dabei zeigte es sich, dass für den positiven Nachweis von *C. coli* auf Schlachtkörpern in Schlachthof 3 eine signifikant höhere Chance (0,887:1) und in Schlachthof 1 eine signifikant niedrigere Chance (0,139:1) bestand.

#### 4.2.3 Betriebsstatus

Alle zehn untersuchten Betriebe erhielten den Betriebsstatus *Campylobacter* spp.-positiv, da bei ihnen ein Erregernachweis in allen drei Untersuchungsdurchgängen gelang. Die in den Betrieben gewonnenen Proben waren, mit einer Ausnahme (96,4%), zu 100% positiv auf *C. coli*. Die



Nachweisraten an den Schlachthöfen bewegten sich zwischen 5,1% und 64,2%. Zusätzlich wurde bei der ersten Probenentnahme in zwei Betrieben *C. jejuni* isoliert.

### 4.3 Yersinien

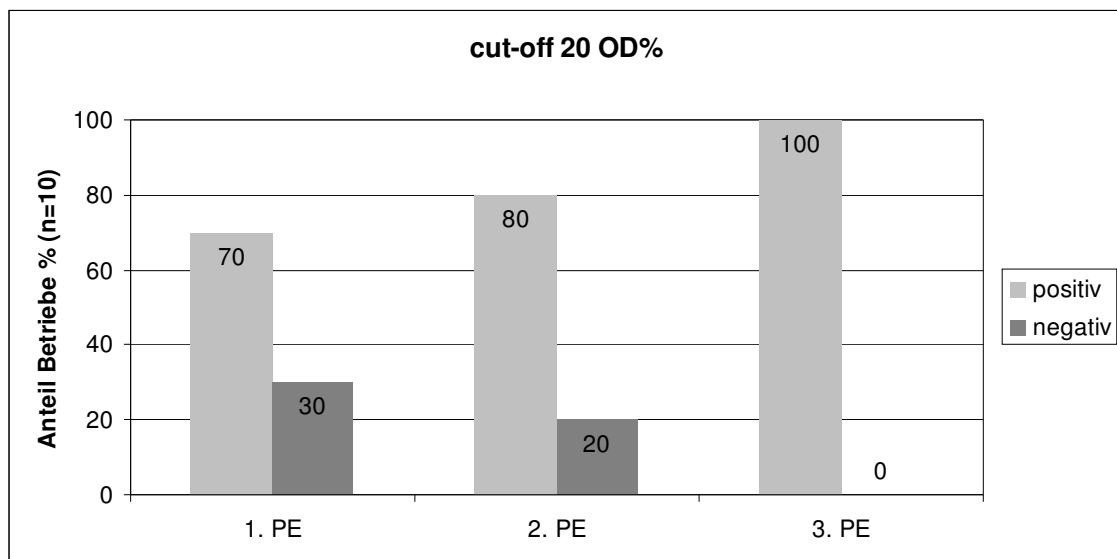
#### 4.3.1 Betriebsstatus

Wie in Tabelle 9 dargestellt, wurden insgesamt 545 Mastschweine von zehn Betrieben mittels ELISA auf eine mögliche Infektion mit pathogenen *Yersinia* spp. untersucht. Der serologische Nachweis erfolgte im Zuge dreier Probenentnahmen bei jeweils denselben Tieren. Ab einem cut-off  $\geq 20$  OD% wurden die Proben als positiv gewertet. Demnach wiesen im ersten Probendurchgang 42,2% aller untersuchten Tiere einen positiven Befund auf. Bei der zweiten Probenentnahme wurden 56,1% als positiv gewertet und bei der dritten waren es 60,0%.

**Tabelle 9: Nachweis *Yersinia* spp. (ELISA)**

Be- trieb	Anzahl Proben	1. Probenentnahme (Serum)		2. Probenentnahme (Serum)		3. Probenentnahme (Fleischsaft)	
		n $\geq 20$ OD%	(%)	n $\geq 20$ OD%	(%)	n $\geq 20$ OD%	(%)
A	56	31	(55,4)	31	(55,4)	34	(60,7)
B	56	30	(53,6)	56	(100)	56	(100)
C	51	23	(45,1)	51	(100)	51	(100)
D	59	0	(0,0)	0	(0,0)	1	(1,7)
E	59	59	(100)	56	(94,9)	58	(98,3)
F	56	56	(100)	56	(100)	54	(96,4)
G	55	0	(0,0)	1	(1,8)	5	(9,1)
H	50	29	(58,0)	49	(98,0)	49	(98,0)
I	53	2	(3,8)	6	(11,3)	16	(30,2)
K	50	0	(0,0)	0	(0,0)	3	(6,0)
Ges.	545	230	(42,2)	306	(56,1)	327	(60,0)

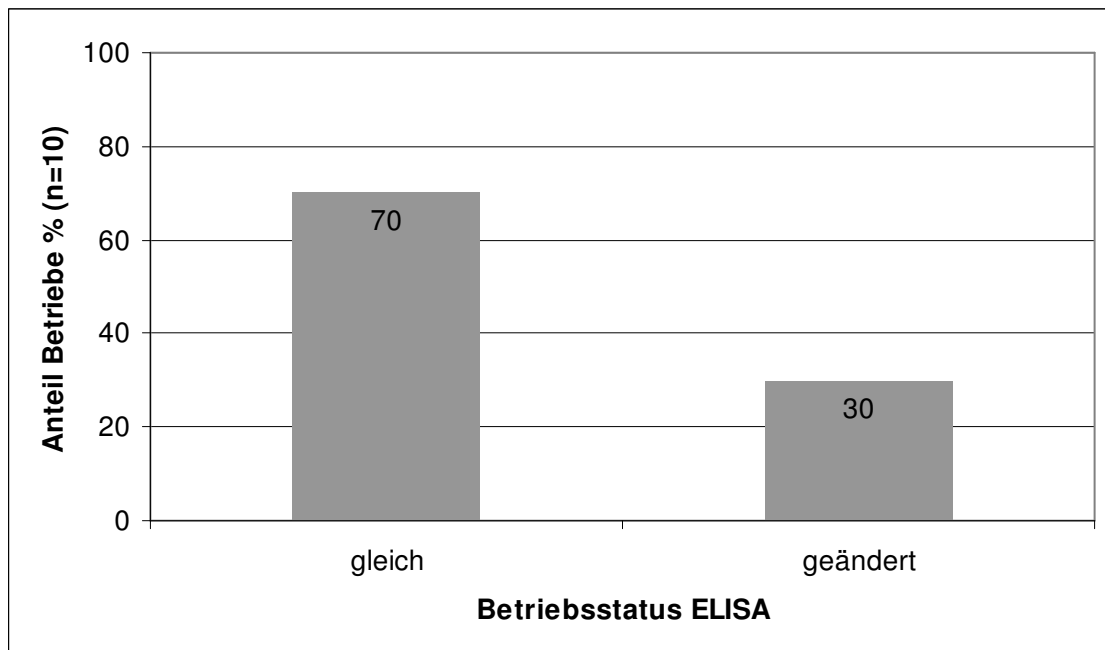
Auf Betriebsebene wurde eine Versuchsgruppe als positiv gewertet sobald der Befund eines Tieres positiv war. Als Folge wurde dem betreffenden Betrieb der Status *Yersinia*-positiv zugeteilt (siehe Abbildung 11). Im Rahmen der ersten Probenentnahme wurden drei Betriebe als negativ und sieben als positiv bewertet. Bei den positiven Betrieben gelang der Nachweis in 3,8% bis 100% der Proben. Bei der zweiten Probenentnahme waren zwei Betriebe negativ und acht Betriebe positiv mit Nachweishäufigkeiten von 1,8% bis 100%. Die Ergebnisse des dritten Probendurchganges zeigten schließlich, dass alle zehn Betriebe positiv waren. Es wurden Nachweishäufigkeiten von 1,7% bis 100% gefunden.



**Abbildung 11: Einteilung nach cut-off  $\geq 20$  OD% (*Yersinia* spp.)**

#### 4.3.2 Veränderung des Betriebsstatus

Im Laufe der drei Untersuchungsdurchgänge behielten sieben Betriebe während aller drei Probenentnahmen ihren Betriebsstatus *Yersinia*-positiv bei. Drei Betriebe wechselten den Status von negativ zu positiv (siehe Abbildung 12). Dabei kam es bei einem dieser Betriebe zwischen erster und zweiter Probenentnahme zum Wechsel des Betriebsstatus und bei den anderen beiden zwischen zweiter und dritter Probenentnahme. Keiner der untersuchten Betriebe wechselte den Betriebsstatus in umgekehrter Richtung von *Yersinia*-positiv zu -negativ.



**Abbildung 12: Veränderung Betriebsstatus (*Yersinia* spp.)**

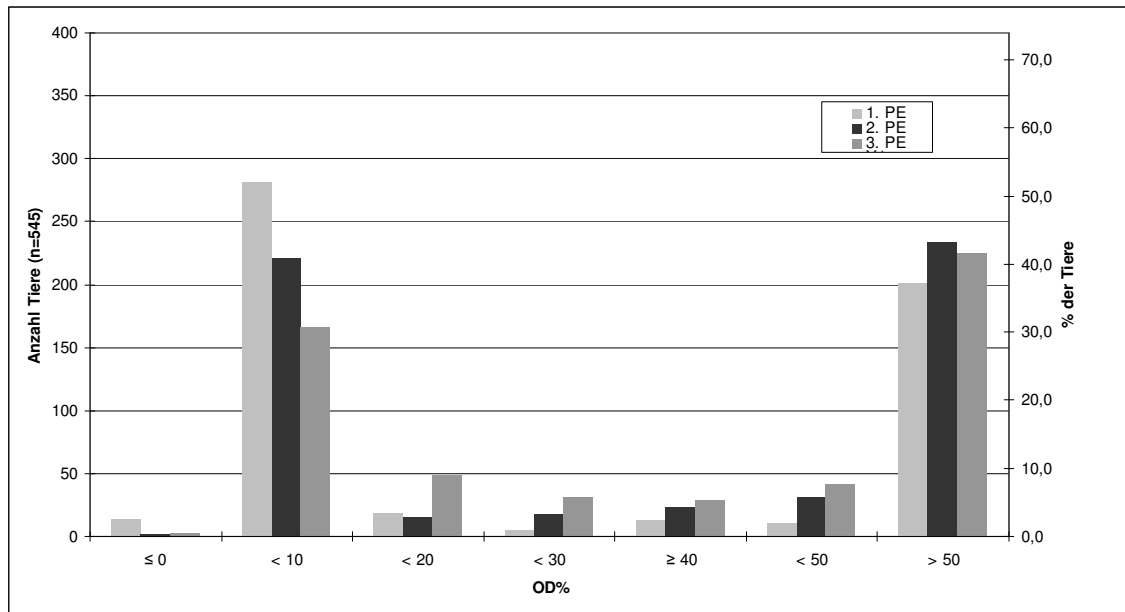
### 4.3.3 Zusammenhänge zwischen den Probenentnahmen

Im Folgenden werden mögliche Korrelationen zwischen den Ergebnissen der drei Probenentnahmen sowohl auf Einzeltier- als auch auf Betriebsebene dargestellt.

Die Analyse erfolgte durch (generalisierte lineare) gemischte Modelle. Dabei werden zu jeder Einflussgrößen-Zielvariablen-Kombination sechs verschiedene Modelle (a-f) angepasst. Die Modellwahl, als Entscheidung welches Modell den besten Kompromiss zwischen guter Anpassung an die Daten und geringer Modell-Komplexität liefert, wird über den AIC (Akaike's Information Criterion) vollzogen. Dabei wird das Modell bevorzugt, welches bei gleicher Zielgröße den kleinsten AIC liefert.

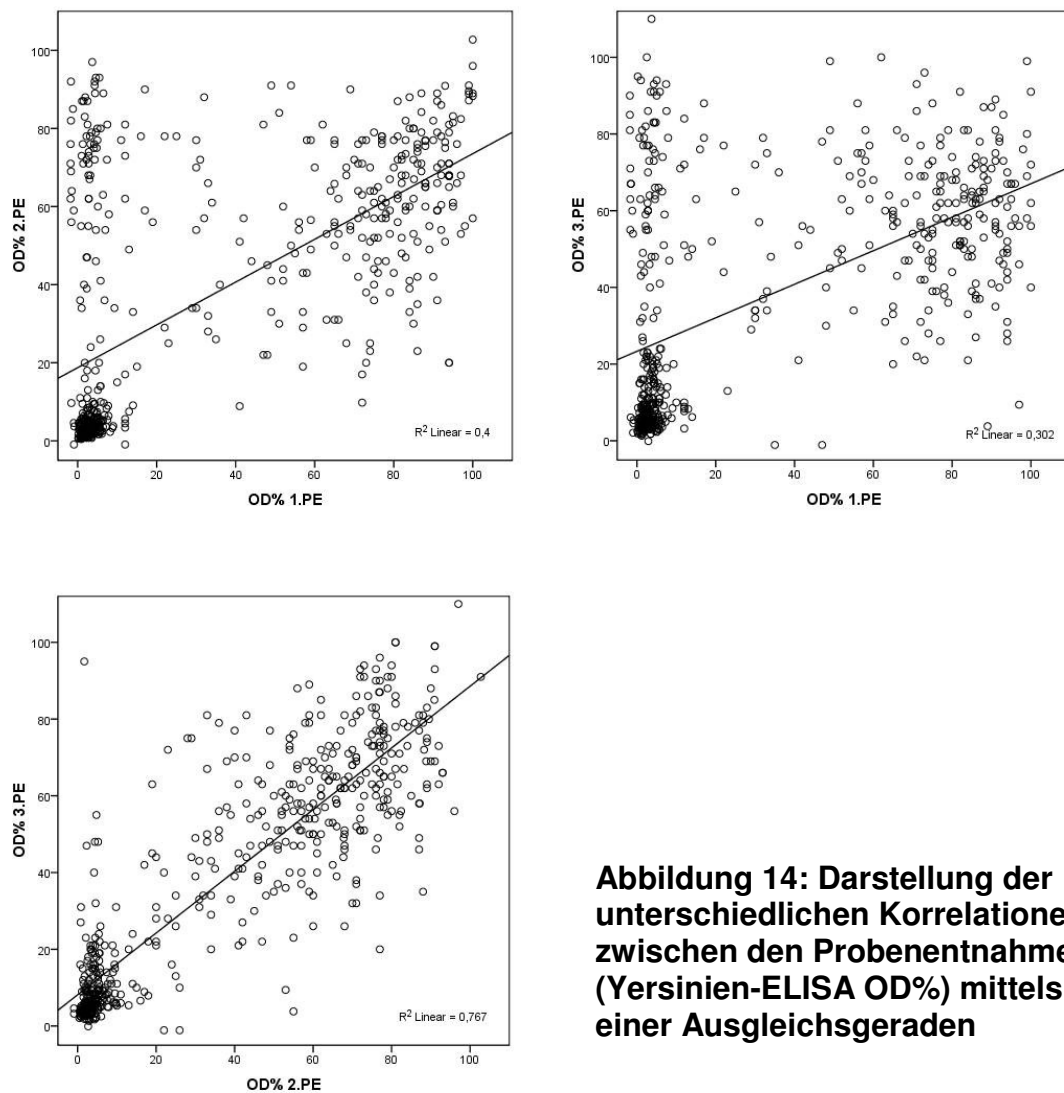
#### 4.3.3.1 Einzeltierebene

In Abbildung 13 sind die Verteilungen der ELISA OD%-Werte aller Tiere dargestellt.



**Abbildung 13: Vergleichende Verteilung der ELISA-Ergebnisse (*Yersinia* spp.) aller Probenentnahmen ohne Berücksichtigung eines cut-off**

Wie schon bei den Salmonellen wurden auf Basis dieser Daten alle drei Probenentnahmen miteinander verglichen. Die Berechnungen ergaben, dass grundsätzlich alle Probenentnahmen signifikant positiv korrelierten.

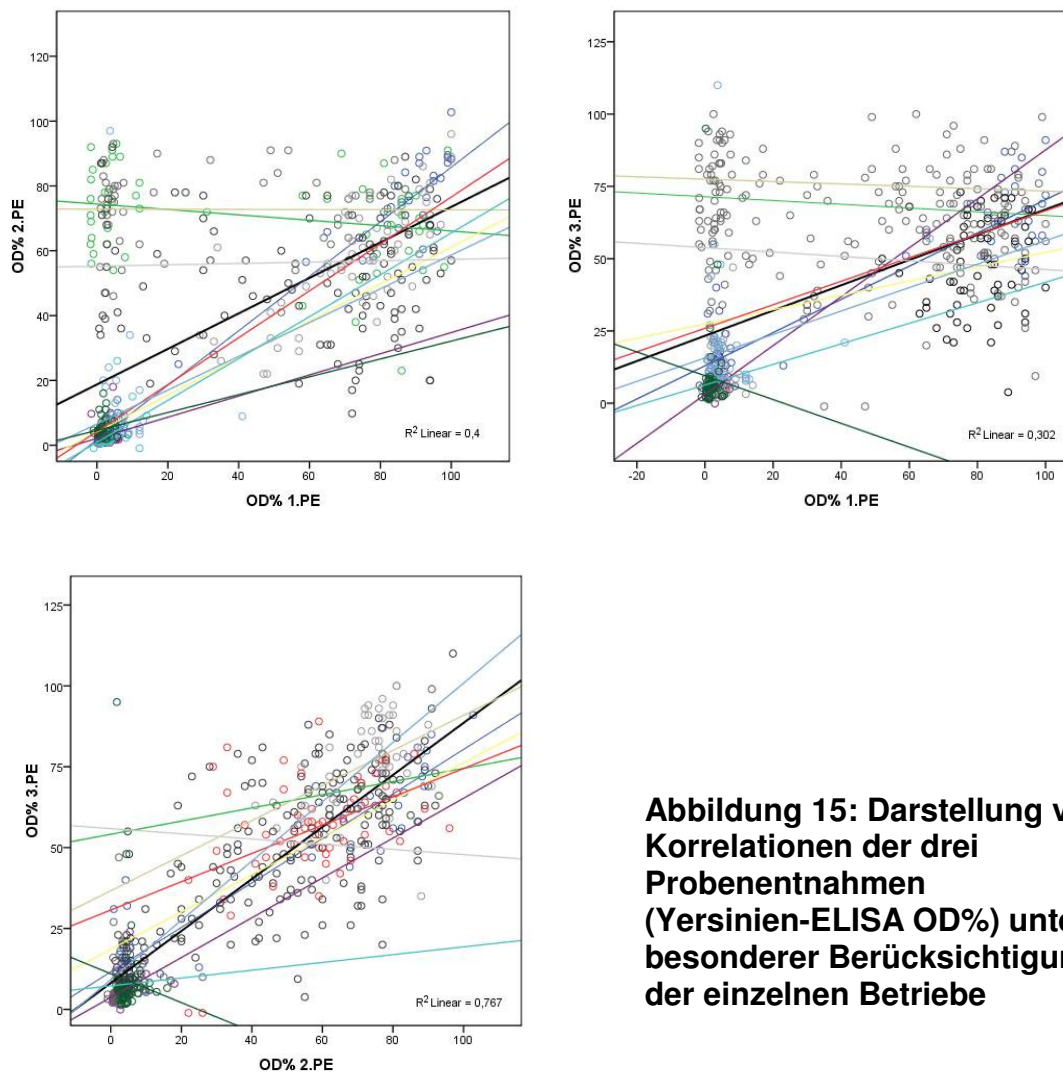


**Abbildung 14: Darstellung der unterschiedlichen Korrelationen zwischen den Probenentnahmen (Yersinien-ELISA OD%) mittels einer Ausgleichsgeraden**

Wie aus der Abbildung 14 ersichtlich wird, bestanden mit  $R^2=0,767$  und  $p<0,0001$  die deutlichsten Korrelationen zwischen der zweiten und dritten Probenentnahme.

#### 4.3.3.2 Betriebsebene

Die Ergebnisse der Probenentnahmen wurden unter Berücksichtigung der jeweiligen Betriebszugehörigkeit miteinander verglichen und in Abbildung 15 dargestellt. Erneut ist jedem der zehn Betriebe eine dünne Gerade zugeordnet.



**Abbildung 15: Darstellung von Korrelationen der drei Probenentnahmen (Yersinien-ELISA OD%) unter besonderer Berücksichtigung der einzelnen Betriebe**

Es wurde für jeden Vergleich ein AIC ermittelt. Aufgrund des niedrigsten AIC wurde ersichtlich, dass die erste und zweite Messung (AIC=4310,82) am deutlichsten korrelieren. Beim Vergleich von erster (AIC=4474,06) und zweiter (AIC=4352,91) Probenentnahme mit dritter Probenentnahme wurde berechnet, dass die zweite die dritte Messung besser erklärt.

Ähnlich wie bei den Ergebnissen für die Salmonellen-Messungen ist zu beachten, dass in allen drei Vergleichen Betriebe dabei waren, deren Ausgleichsgeraden eine signifikant höhere oder niedrigere Steigung aufwiesen, als die allgemeine Ausgleichsgerade.

## 4.4 Einteilung der Betriebe anhand des Betriebsscore

### 4.4.1 Verteilung der Scorepunkte auf die Betriebe

Anhand der in Tabelle 3 genannten Parameter wurde ein Gesamtscore je Betrieb berechnet. Dabei lag die geringste zu erreichende Anzahl von Scorepunkten bei -13 und das Maximum bei 16. Die Ergebnisse sind in Abbildung 16 dargestellt.

Einer der Betriebe hatte einen sehr niedrigen Score von null Scorepunkten. Zwei Betriebe wiesen einen niedrigen Gesamtscore von acht Punkten auf und für ebenfalls zwei Betriebe wurde ein mittlerer Gesamtscore von neun und zehn Punkten berechnet. Die restlichen vier Betriebe hatten einen hohen Gesamtscore zwischen 13 und 15 Punkten.

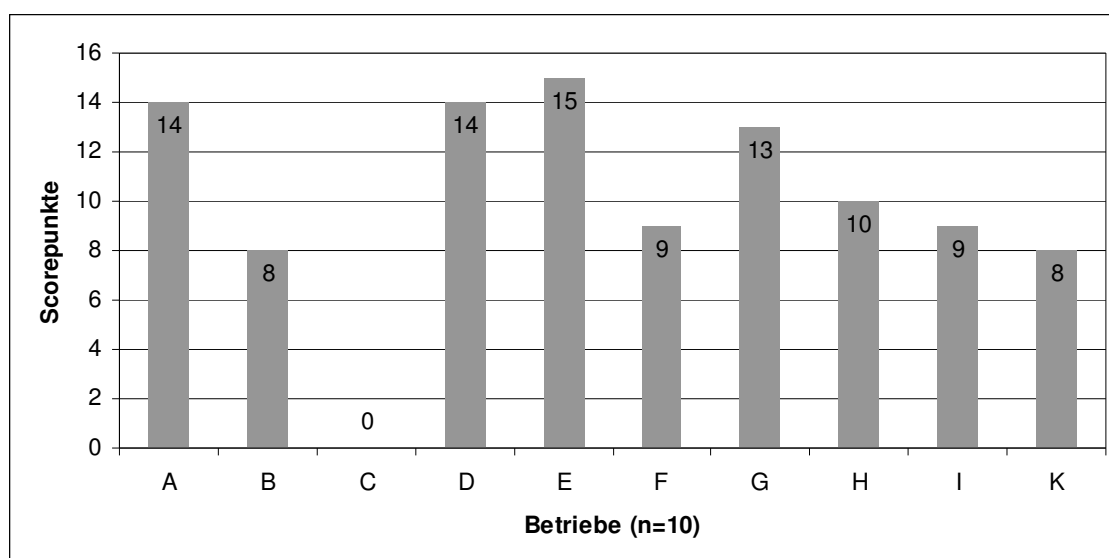


Abbildung 16: Einteilung der Betriebe nach Betriebsscore

### 4.4.2 Korrelationen zwischen Betriebsscore und Erregernachweis

Die Berechnungen erfolgten abhängig von der jeweiligen Zielgröße mit linearen oder generalisierten linearen Modellen. Als Einflussgröße war immer der Betriebsscore gesetzt. Es wurde getestet, ob die Einflussgröße einen signifikanten Erklärungsanteil an der Zielgröße hatte.

Zusätzlich wurden die Betriebe in solche mit einem niedrigeren und solche mit einem höheren Score unterteilt, um sie dann in Kreuztabellen deskriptiv einzuordnen und mittels  $\chi^2$ -Test mögliche Signifikanzen zu berechnen.

Zwischen dem Betriebsscore und den ELISA Ergebnissen (ohne cut-off) der Salmonellen-Messungen als Zielgrößen bestanden bei allen drei Probenentnahmen signifikante Zusammenhänge. Die Berechnungen zur zweiten ( $p < 0,0001$ ) und dritten ( $p = 0,0151$ ) Probenentnahme zeigten, dass bei steigendem Betriebsscore, die erwarteten OD%-Werte der jeweiligen Probenentnahme sanken. Bei der ersten ( $p = 0,0296$ ) Probenentnahme verhielt es sich genau umgekehrt.

Teilte man die Betriebe einfach nach einem niedrigeren und einem höheren Gesamtscore ein und verglich diese Kategorisierung mit der Einteilung jeweils nach cut-off  $\geq 20$  und  $\geq 40$  OD% kam man zu folgenden Ergebnissen (siehe Tabelle 10). Bei den Berechnungen zur ersten Probenentnahme erhielt man bei beiden cut-off Werten mit  $p < 0,0001$  und  $p = 0,028$  einen signifikanten Zusammenhang. Wie schon bei den vorherigen Ergebnissen für die erste Probenentnahme zeigte es sich, dass die Betriebe mit höherem Score auch eine höhere Nachweisrate im ELISA hatten. Bei den beiden anderen Probenentnahmen konnte kein signifikanter Zusammenhang berechnet werden.



**Tabelle 10: Zusammenhänge zwischen einem höheren oder niedrigeren Betriebsscore und einem höheren oder niedrigeren cut-off bei *Salmonella* spp. dargestellt mittels Kreuztabellen für 1. (a), 2. (b) und 3. (c) Probenentnahme**

a)

cut-off ≥20 OD%	ELISA negativ	ELISA positiv	1. PE
Score niedriger	259	7	n=266
Score höher	249	30	n=279
p<0,0001	n=508	n=37	n=545

cut-off ≥40 OD%	ELISA negativ	ELISA positiv	1. PE
Score niedriger	266	0	n=266
Score höher	274	5	n=279
p=0,028	n=540	n=5	n=545

b)

cut-off ≥20 OD%	ELISA negativ	ELISA positiv	2. PE
Score niedriger	250	16	n=266
Score höher	271	8	n=279
p=0,073	n=521	n=24	n=545

cut-off ≥40 OD%	ELISA negativ	ELISA positiv	2. PE
Score niedriger	265	1	n=266
Score höher	278	1	n=279
p=0,973	n=543	n=2	n=545

c)

cut-off ≥20 OD%	ELISA negativ	ELISA positiv	3. PE
Score niedriger	234	32	n=266
Score höher	252	27	n=279
p=0,377	n=486	n=59	n=545

cut-off ≥40 OD%	ELISA negativ	ELISA positiv	3. PE
Score niedriger	264	2	n=266
Score höher	275	4	n=279
p=0,446	n=539	n=6	n=545

Verglich man die Ergebnisse der Messungen auf *Campylobacter* spp. mit dem Betriebsscore, waren aufgrund der geringen Varianz in den ersten beiden Probenentnahmen keine Berechnungen möglich. Bei der dritten Probenentnahme hatte der Betriebsscore einen signifikanten ( $p<0,0001$ ) Erklärungsanteil an der Zielgröße. Stieg der Betriebsscore um eine Einheit,

sank die Chance auf einen Nachweis von *Campylobacter* spp. in der Erwartung um den Faktor 0,926.

Bei den Berechnungen der Zusammenhänge von Betriebsscore und den ELISA Ergebnissen für Yersinien konnte im Rahmen der ersten Probenentnahme keine Signifikanz ( $p=0,0635$ ) ermittelt werden. Bei den beiden folgenden Probenentnahmen bestand zum Betriebsscore jeweils ein signifikanter ( $p<0,0001$ ) Zusammenhang. Wie schon bei den Untersuchungen zu den Salmonellen, fielen die erwarteten OD%-Werte der zweiten und dritten Probenentnahme mit steigendem Betriebsscore.

Wiederum wurden die Betriebe anhand ihres niedrigeren oder höheren Gesamtscores eingeteilt und verglichen (siehe Tabelle 11). Hierbei waren die ermittelten Ergebnisse ähnlich denen der vorherigen Berechnungen. Für die erste Probenentnahme konnte kein signifikanter Zusammenhang ( $p=0,827$ ) berechnet werden. Im Rahmen der beiden anderen Probenentnahmen konnten jeweils mit  $p=0,001$  und  $p<0,0001$  signifikante Zusammenhänge zwischen der Höhe des Gesamtscores und den Ergebnissen des ELISA-Nachweises berechnet werden.

**Tabelle 11: Zusammenhänge zwischen einem höheren oder niedrigeren Betriebsscore und der Einteilung nach cut-off  $\geq 20$  OD% bei *Yersinia* spp. dargestellt mittels Kreuztabellen für 1. (a), 2. (b) und 3. (c) Probenentnahme**

a)

cut-off $\geq 20$ OD%	ELISA negativ	ELISA positiv	1. PE
Score niedriger	155	111	n=266
Score höher	160	119	n=279
p=0,827	n=315	n=230	n=545

b)

cut-off $\geq 20$ OD%	ELISA negativ	ELISA positiv	2. PE
Score niedriger	97	169	n=266
Score höher	142	137	n=279
p=0,001	n=239	n=306	n=545

c)

cut-off $\geq 20$ OD%	ELISA negativ	ELISA positiv	3. PE
Score niedriger	86	180	n=266
Score höher	132	147	n=279
p<0,0001	n=218	n=327	n=545

## 5 Diskussion

Im Rahmen dieser Arbeit wurde das Vorkommen humanpathogener *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp. und *Yersinia* spp. beim Mastschwein untersucht. Dabei war das Ziel der durchgeführten Untersuchungen das Aufzeigen von Zusammenhängen zwischen den Ergebnissen der Probenentnahmen im Betrieb und am Schlachthof, unter Berücksichtigung der angewandten diagnostischen Methodik. Gleichzeitig sollte der Probenentnahmezeitpunkt im Betrieb bestimmt werden, dessen Ergebnisse am deutlichsten mit denen am Schlachthof korrelierten. Des Weiteren wurden mögliche Zusammenhängen zwischen Betriebsstrukturen und Vorkommen der jeweiligen Erreger untersucht.

### 5.1 Salmonellen

#### 5.1.1 Diagnostik von Salmonellen

Der Nachweis von *Salmonella*-Antikörper wurde in Bezug auf die Probenanzahl nach den gesetzlichen Vorgaben der Schweine-Salmonellen-VO durchgeführt. Dabei wurde ein nach QS-System zertifizierter ELISA verwendet. Aus Kottupfern erfolgte in den ersten beiden Probendurchgängen vergleichend ein direkter Erregernachweis mittels PCR.

Der Anteil der mittels ELISA getesteten Tiere, die einen positiven Antikörpertiter gegen *Salmonella* spp. bei angewandtem cut-off  $\geq 40$  OD% aufwiesen war mit durchschnittlich 0,8% gering. Im Zuge der ersten Probenentnahme lag die Prävalenz im Serum bei 0,9%, gefolgt von 0,4% in der zweiten Probenentnahme. Bei der dritten Probenentnahme am Schlachthof aus Fleischsaft stieg die Seroprävalenz auf 1,1% an. Im Vergleich mit den Ergebnissen deutscher und dänischer Studien ist dies immer noch als sehr gering einzustufen. Dort werden Nachweishäufigkeiten zwischen 6,1% und 7,7% festgestellt (Mousing et al., 1997; Käsbohrer et al., 1998; Nowak et al., 2007). Auch in Untersuchungen aus Belgien und Großbritannien werden

deutlich höhere Prävalenzen gefunden, diese liegen zwischen 15% und 24% (Davies und Wray, 1997; Botteldoorn et al., 2003). Als mögliche Gründe für diese Varianz der Ergebnisse kommen auf der einen Seite länderspezifische Unterschiede in Bezug auf die Dichte der Schweinepopulation, sowie das angewandte Betriebsmanagement und auf der anderen Seite Unterschiede in den serologischen Testsystemen in Betracht (Nowak et al., 2007; Szabo et al., 2008).

Im Rahmen der Kategorisierung (cut-off  $\geq 40$  OD%) auf Bestandsebene wiesen in den ersten beiden Probenentnahmen acht Betriebe und in der dritten Probenentnahme sieben von zehn Betrieben einen seronegativen Status auf. Dies deckt sich mit den Ergebnissen von Nowak et al. (2007), die 81,1% der von ihnen untersuchten Betriebe als seronegativ beurteilten.

Um einen Vergleich mit anderen Untersuchungen herstellen zu können, wurde ein zusätzlicher cut-off  $\geq 20$  OD% zur Bewertung der Proben herangezogen. Bei Anwendung dieses niedrigeren cut-off verzehnfachte sich in allen drei Probendurchgängen die Nachweisrate. Am Schlachthof waren statt 1,1%, 10,8% der Proben positiv. Ein derart starker Anstieg kann in anderen Untersuchungen nicht beobachtet werden. Dort verdoppeln sich die Prävalenzen lediglich (Davies et al., 2004; Nowak et al., 2007). Auf Bestandsebene verringerte sich der Anteil der seronegativen Betriebe bei der ersten und dritten Probentnahme auf einen und bei der zweiten Probenentnahme auf drei von zehn Betrieben. Aufgrund der Ergebnisse der dritten Probenentnahme wurden zwei Betriebe in die Salmonellen-Kategorie II eingeteilt. Im Vergleich dazu erfolgte nach cut-off  $\geq 40$  OD% eine Einteilung aller Betriebe in Kategorie I. Nollet et al. (2005) sehen die Wahl des cut-off als entscheidend an. Sie können bei einigen Betrieben, in denen Salmonellen bakteriologisch isoliert werden, bei einem cut-off  $\geq 40$  OD% keine Antikörper nachweisen. Die serologische Erfassung dieser Betriebe gelingt mit der Wahl eines niedrigeren cut-off  $\geq 20$  OD% sicherer. Jedoch besteht einerseits bei einem niedrigeren cut-off die Gefahr falsch-positiver Ergebnisse, andererseits erhält man die Möglichkeit *Salmonella*-verdächtige Betriebe früher zu detektieren. In Dänemark wurde vor diesem Hintergrund bereits 2001 der

niedrigere cut-off im staatlichen Überwachungsprogramm etabliert (Alban et al., 2002; Nowak et al., 2007).

Der Nachteil des serologischen Nachweises mittels ELISA besteht darin, dass negative Ergebnisse nicht mit Sicherheit die Salmonellenfreiheit eines Betriebes garantieren können, da es vom Beginn einer Infektion bis zur Serokonversion ein bis acht Wochen dauern kann (Nielsen et al., 1995; Proux et al., 2000). Bei Infektionen am Mastende, während des Transportes oder im Wartestall können die Tiere bereits Salmonellen ausscheiden, aber noch nicht serokonvertiert haben.

Farzan et al. (2007) zeigen in ihrem Vergleich von zwei kommerziellen ELISA-Kits und der bakteriologischen Untersuchung von Kotproben, dass der serologische Nachweis nicht alle Tiere erfasst, die kulturell positiv sind.

In den eigenen Untersuchungen mittels PCR aus Kottupfern wurde im Zuge der ersten Probenentnahme bei einem Tier Erregergenom nachgewiesen. Im Rahmen der zweiten Probenentnahme gelang der Nachweis bei fünf Tieren aus zwei Betrieben. Dies entsprach für die erste Probenentnahme einem Anteil positiver Proben von 0,2%, bzw. 0,9% für die zweite Probenentnahme. Bei vergleichender Betrachtung der Ergebnisse der serologischen und bakteriologischen Untersuchungen ergab sich weder bei der Wahl eines cut-off  $\geq 20$  OD% noch bei  $\geq 40$  OD% ein signifikanter Zusammenhang zwischen diesen. Immerhin waren alle drei Betriebe in denen mittels PCR Erregergenom nachgewiesen wurde auch im Antikörpernachweis nach cut-off  $\geq 20$  OD% positiv. Lediglich ein Betrieb war zusätzlich bei Anwendung des cut-off  $\geq 40$  OD% positiv. Die Betriebe wurden jeweils in Kategorie I eingeteilt. Tendenziell stimmen die Ergebnisse mit denen von Scherer et al. (2008) überein, die in ihrer Vergleichsuntersuchung mehr serologisch positive, als Erreger ausscheidende Tiere finden. Daraus schließen sie, dass im Bestand der Antikörpernachweis mittels ELISA dem direkten Erregernachweis überlegen ist. Nachteile des direkten Erregernachweises stellen persistent infizierte Trägartiere und intermittierende Ausscheidung von Salmonellen dar (Wood et al., 1989; Wang et al., 2007). Nowak et al. (2007) hingegen finden am Schlachthof mittels PCR aus Tonsillen und anderem lymphatischen Gewebe

deutlich mehr *Salmonella*-positive Schweine als in der Serologie. Ähnliche Differenzen zwischen bakteriologischem und serologischem Nachweis finden Nollet et al. (2005), die aber ebenfalls Organproben anstatt Kotproben untersuchen. Diese Gewebeproben stehen jedoch zur Diagnostik am lebenden Tier nicht zur Verfügung.

Im Rahmen eines Screenings im Bestand stellt der serologische Nachweis eine geeignete Methode dar, um einen frühzeitigen Hinweis auf eine Salmonellenbelastung zu erhalten. Dabei ist der gewählte cut-off von Interesse, da ein niedrigerer cut-off sensitiver ist und eine frühere Detektion ermöglicht. Allerdings muss dieser Hinweis gegebenenfalls mittels eines bakteriologischen Nachweises genauer abgeklärt werden, mit dem Ziel Schweine mit einer möglichst geringen Salmonellenbelastung zu liefern. Dabei sind regelmäßige Untersuchungen von Bedeutung, da nach Rajic et al. (2005) Bestände ihren Status innerhalb weniger Monate öfters wechseln können.

### 5.1.2 Vergleich der Probenentnahmezeitpunkte

Aufgrund der besten Korrelation ( $R^2=0,232$ ) zwischen zweiter Probenentnahme und Schlachthofbeprobung wird aufgezeigt, dass der günstigste Zeitpunkt für ein serologisches Screening auf *Salmonella* spp. kurz vor der Schlachtung im Betrieb ist. Vergleicht man die Zusammenhänge auf Betriebsebene wird festgestellt, dass die Ergebnisse der beiden Probenentnahmen in den jeweiligen Betrieben am deutlichsten korrelieren. Für den Zeitpunkt eines Bestandsscreenings wird dennoch die zweite Probenentnahme favorisiert, da die Korrelation mit den Ergebnissen der Probenentnahme am Schlachthof deutlicher ist als die mit der früheren Probenentnahme im Betrieb.

## 5.2 Campylobacter

### 5.2.1 Diagnostik von Campylobacter

Die Untersuchung der Kottupferproben auf *Campylobacter* spp. wurde im ersten und zweiten Probendurchgang durchgeführt. Die real-time PCR, die zum Einsatz kam, weist die Spezies *C. coli*, *C. jejuni* und *C. lari* nach.

Der Nachweis von *C. lari* gelang in den eigenen Untersuchungen nicht. Beim Schwein spielt diese Spezies nur eine untergeordnete Rolle und wird hauptsächlich bei Möwen isoliert (Selbitz, 2007a). Auch Alter et al. (2005) gelingt es nicht in ihrer Untersuchung *C. lari* nachzuweisen.

Der Nachweis von *C. jejuni* gelang im Verlauf der ersten Probenentnahme bei 0,6% der insgesamt beprobten Mastschweine. Bei den beiden folgenden Probenentnahmen konnte *C. jejuni* nicht nachgewiesen werden. In der Literatur schwanken die Angaben der Prävalenz von *C. jejuni* stark. Die Nachweisraten bei Endmastschweinen aus Kot reichen in den unterschiedlichen Studien von 0,2% bis 4,7% (Boes et al., 2005; Schuppers et al., 2005; von Altrock et al., 2006; Varela et al., 2007; Fosse et al., 2008). Diese Ergebnisse stimmen mit den eigenen Befunden überein. Zu beachten ist, dass in der eigenen Studie eine PCR zum Nachweis des Erregergenoms zur Anwendung kam. In den anderen Untersuchungen dagegen wurden *Campylobacter* spp. kulturell angezüchtet. Nesbakken et al. (2003) können in ihren Vergleichsuntersuchungen allerdings keinen statistischen Unterschied zwischen dem Nachweis mittels PCR und kultureller Anzucht finden. Die Ergebnisse der Studie von Wehebrink et al. (2008) können durch die eigenen Untersuchungen nicht bestätigt werden. Dort wird *C. jejuni* bei 12,1% der untersuchten Saugferkel kulturell isoliert und bis zum Ende der Mast steigt die Prävalenz bis auf 42,1% an.

Die eigenen Untersuchungen mittels PCR ergaben, dass im Zuge der ersten beiden Probenentnahmen in allen Beständen *C. coli* bei annähernd 100% der Mastschweine aus Kottupfern nachgewiesen wurden. Auch von Altrock et al. (2006) ermitteln eine Betriebsprävalenz von 100% bei Mastschweinen, allerdings werden *Campylobacter* spp. aus dem Kot von nur 69,7% der Tiere



isoliert. Alter et al. (2005) finden *C. coli* bei 79,1% der untersuchten Endmastschweine. Weitere Studien in denen Nachweisraten zwischen 95,3% und 99,2% gefunden werden, bestätigen die hohen Prävalenzen der eigenen Untersuchungen (Schuppers et al., 2005; Varela et al., 2007; Fosse et al., 2008). Die hohen Nachweisraten erklären sich durch das Vorkommen von *C. coli* beim Schwein als Kommensale des Darmes und durch die Methode der Untersuchung mittels PCR, bei der sowohl Genomfragmente von lebenden, als auch von abgestorbenen Bakterien nachgewiesen werden (Selbitz, 2007a). Im Gegensatz dazu bietet die kulturelle Anzucht den Vorteil, dass nur lebende Erreger nachgewiesen werden. Ein Nachteil dieser Methode liegt jedoch in der Empfindlichkeit des Erregers gegen äußere Umwelteinflüsse. Ein grundsätzlicher Nachteil des direkten Erregernachweises wird in der intermittierenden Ausscheidung von *Campylobacter* spp. gesehen (von Altrock et al., 2006; Leblanc Maridor et al., 2008). Aufgrund der hohen Nachweisrate in der eigenen Untersuchung kann diese Problematik nicht bestätigt werden.

Bei der Verwendung von Oberflächentupfern im Rahmen der dritten Probenentnahme am Schlachthof verringerte sich die Nachweisrate. Der Erregernachweis in Abhängigkeit des jeweiligen Schlachthofes gelang von 11,9% bzw. 47,9% der Schlachtkörper. Dies deckt sich mit anderen Studien, die *Campylobacter* spp. auf 21,1% bis 33% der frischen Schlachttierkörper nachweisen (Gaull, 2002; Pearce et al., 2003; von Altrock et al., 2004; Alter et al., 2005). Da die Nachweisraten von *Campylobacter* spp. aus dem Darminhalt von bereits geschlachteten Schweine in verschiedenen Studien mit 97,5% und 100% ähnlich hoch sind, lassen sich die signifikant unterschiedlichen Isolationsraten auf der Schlachttierkörperoberfläche durch eine Schlachthofabhängige Kreuzkontamination, in Folge Verbreitung von Darminhalt erklären (Nesbakken et al., 2003; Boes et al., 2005). Dies bestätigen Malakauskas et al. (2006), die in ihren Untersuchungen mögliche Kontaminationswege am Schlachthof aufzeigen. Allerdings führt nach Pearce et al. (2003), Alter et al. (2005) und Wehebrink et al. (2008) die anschließende Kühlung und Abtrocknung der Oberfläche zu einem deutlichen Rückgang der Isolationsrate auf 0 bis 0,8%.

Die Tatsache, dass sich Ferkel bereits in den ersten Lebenswochen mit *Campylobacter* spp. infizieren können und die hohe Prävalenz des Erregers in den Beständen, lassen eine erfolgreiche Bekämpfungsstrategie auf der Ebene der Primärproduktion fraglich erscheinen (Weijtens et al., 1997; Alter et al., 2005). Untersuchungen von Weijtens et al. (2000) zeigten, dass in einem mit SPF-Sauen sanierten Schweinezuchtbestand mit zunächst *Campylobacter* spp.-negativen Tieren die bakteriologische Prävalenz trotz hoher Hygienestandards im Vergleich mit herkömmlichen Betrieben lediglich auf einem unwesentlich geringeren Niveau gehalten werden konnte. Daher muss angenommen werden, dass die Schaffung *Campylobacter* spp.-freier Bestände mit erheblichen wirtschaftlichen Belastungen verbunden wäre. Das Erhalten eines solchen Status ist jedoch durch die große Verbreitung des Erregers kaum zu realisieren. Der Nachweis von *Campylobacter* spp. ist dann von Interesse, wenn *Campylobacter*-Infektionen am Schlachthof kontrolliert und gegebenenfalls auch gemäßregelt werden.

## **5.3 Yersinien**

### **5.3.1 Diagnostik von Yersinien**

Bei den eigenen Untersuchungen waren zunehmend ab dem ersten Probenentnahmezeitpunkt zwischen 42,2% und 60,0% aller beprobten Tiere serologisch *Y. enterocolitica*-positiv. In der ersten Probenentnahme waren drei Betriebe und im zweiten Durchgang noch zwei Betriebe serologisch negativ. Bei der dritten Probenentnahme waren alle zehn untersuchten Betriebe positiv. Das heißt, sowohl auf Einzeltier- als auch auf Bestandsebene stieg die Anzahl der positiven Befunde kontinuierlich an. Die eigenen Ergebnisse werden durch die Untersuchungen von Skjerve et al. (1998) am Schlachthof bestätigt. Der von ihnen verwendete ELISA wies bei 54,1% der beprobten Schlachtschweine aus unterschiedlichen Betrieben Antikörper gegen *Y. enterocolitica* O:3 nach. Daraus resultierend erhielten 63,4% der Betriebe einen Yersinien-positiven

Status. Im Gegensatz zu den eigenen Ergebnissen mit einem cut-off  $\geq 20$  OD% lag hier jedoch der angewandte cut-off bei  $\geq 10$  OD%.

Nesbakken et al. (2003) fanden bei ihren Untersuchungen am Schlachthof deutliche Korrelationen zwischen dem Auftreten von positiven Antikörpertitern in der Serologie und dem bakteriologischen Nachweis von pathogenen *Yersinien* aus den Tonsillen. Aus diesen Blutproben wurden mittels ELISA bei einem cut-off  $\geq 20$  OD% bei 87,5% (n=21) der Proben Antikörper gegen *Y. enterocolitica* O:3 gefunden. Aus den Tonsillen von 17 dieser 21 ELISA-positiven Tiere, wurden mittels PCR pathogene *Yersinia* spp. nachgewiesen. Bei 15 Tieren konnten mittels kultureller Anzucht ebenfalls *Y. enterocolitica* O:3 isoliert werden. Dagegen konnten im Kot bedeutend weniger Erreger nachgewiesen werden. Dies bestätigen andere Studien, die eine zehnfach höhere Prävalenz von *Y. enterocolitica* in den Tonsillen als im Kot aufzeigen (Fredriksson-Ahomaa et al., 2001; Nesbakken et al., 2006). Trotz negativ verlaufender Kotuntersuchungen kann der Erreger im Organismus insbesondere in den Tonsillen über Monate persistieren. Daher stellen hauptsächlich die Tonsillen auf dem Schlachthof den Ausgangspunkt für eine Schlachtkörperkontamination dar, wodurch Schweinefleisch zur Infektionsquelle für den Menschen werden kann (Fredriksson-Ahomaa et al., 2007).

Vor diesem Hintergrund wird die Schlussfolgerung getroffen, dass die Aussagekraft der serologischen Ergebnisse einen genaueren Hinweis über den Infektionsstatus der Tiere gibt als die Untersuchung von Kotproben. Experimentelle Infektionen von Ferkeln mit *Y. enterocolitica* O:3 zeigten, dass bei allen Tieren erst ab dem 19. Tag post infectionem Antikörper gegen den entsprechenden Serotyp nachgewiesen werden konnten (Nielsen et al., 1996). Skjerve et al. (1998) bestätigen dies und kommen zu dem Schluss, dass ein positiver Antikörpernachweis mittels ELISA ein guter Indikator für eine vorangegangene Infektion ist. Obwohl der serologische Nachweis auf Einzeltierebene keinen Aufschluss darüber geben kann, ob ein Schwein zum Zeitpunkt der Schlachtung den Erreger im Kot ausscheidet, so kann man trotzdem sicher erkennen, ob dieses Tier aus einem Betrieb stammt in dem der Erreger resident ist. Demnach deutet der Verlauf der Ergebnisse der eigenen

Untersuchung auf eine bereits bestehende oder gerade beginnende Infektion bei einem Großteil der untersuchten Tiere hin.

Am Schlachthof sollten serologische Testverfahren als Mittel der Kontrolle von *Y. enterocolitica* verwendet werden. Weiterhin sollten nur Schlachtschweine aus *Y. enterocolitica*-freien Herden zusammen transportiert und im Wartestall aufgestellt werden, bevor sie zusammen geschlachtet werden. Grundsätzlich sollten Tiere aus positiven Betrieben zeitlich und räumlich getrennt von denen geschlachtet werden, die aus negativen Betrieben stammen (Nesbakken et al., 2003). Dies macht auch vor dem Hintergrund Sinn, dass die Möglichkeit einer Infektion während des Transportes und im Wartestall besteht (Fukushima et al., 1990).

### **5.3.2 Vergleich der Probenentnahmezeitpunkte**

Es wurden die Ergebnisse der serologischen Untersuchung der drei Probenentnahmen miteinander verglichen. Dabei kommt man aufgrund der deutlichsten Korrelation ( $R^2=0,767$ ) zu dem Schluss, dass der günstigste Zeitpunkt für ein serologisches Screening auf *Y. enterocolitica* entweder kurz vor der Schlachtung im Betrieb oder im Zuge der Schlachtung am Schlachthof ist. Nesbakken et al. (2006) kommen in ihrer Verlaufsuntersuchung zu ähnlichen Ergebnissen und empfehlen als Basis für eine Kategorisierung der Betriebe die serologische Untersuchung mittels ELISA im Betrieb ab dem 100. Lebenstag und am Schlachthof zwischen dem 150. und 180. Lebenstag. Der bakteriologische Nachweis aus dem Kot kommt für Schweine im Alter zwischen dem 85. und 135. Lebenstag in Frage.

## **5.4 Korrelationen zwischen Betriebsscore und Erregernachweis**

Management und Betriebsstruktur üben einen wichtigen Einfluss auf die Tiergesundheit aus (Schuh, 2001; Soerensen et al., 2006). Der verwendete Betriebsscore bewertete die auf den Betrieben erfassten wichtigsten Angaben

zur allgemeinen Betriebsstruktur, baulichen Gestaltung, Fütterung und Hygienemanagement nach einem Punktesystem.

Beim Vergleich des Betriebsscores mit den serologischen Salmonellen-Ergebnissen der letzten Probenentnahme im Betrieb und den Ergebnissen am Schlachthof konnte folgender signifikanter Zusammenhang festgestellt werden. Je besser der Betriebsscore ausfiel, desto niedriger wurde der Antikörpertiter. Dies bestätigen indirekt andere Untersuchungen in denen eine mangelhafte Reinigung und Desinfektion, mehrere Ferkelherkünfte, das Umstallen der Schweine während der Mast und generell eine schlechte Biosecurity als wichtigste Risikofaktoren für eine Infektion mit *Salmonella* spp. benannt werden (Beloeil et al., 2007; Fosse et al., 2009). Berends et al. (1996) fordern daher ein striktes und konsequentes Hygieneregime im Bestand.

Ein sinnvoller Vergleich von Betriebsscore und dem Vorkommen von *Campylobacter* spp. in den Beständen war aufgrund der allgemeinen Nachweisrate von annähernd 100% nicht möglich. Allerdings beschreiben Wehebrink et al. (2007) in ihrer Untersuchung beispielsweise Mastställe <1000 Einheiten als Risikofaktor. Zwischen den unterschiedlichen Nachweisraten am Schlachthof und dem Betriebsscore konnte ein signifikanter Zusammenhang analog den Salmonellen-Ergebnissen berechnet werden. Dieser Ansatz wurde aber nicht weiter verfolgt, da dieser Befund bereits den jeweiligen hygienischen Bedingungen und der damit verbundenen Kreuzkontamination an den Schlachthöfen zugeordnet wurde.

Der Vergleich der *Yersinia*-Ergebnisse mit dem jeweils ermittelten Betriebsscore ergab für die zweite und dritte Probenentnahme einen signifikanten Zusammenhang. Wie schon bei den *Salmonella*-Ergebnissen konnte bei einem steigenden Betriebsscore ein sinkender Antikörpertiter festgestellt werden. Dagegen können Andersen et al. (1991) keinerlei signifikante Zusammenhänge zwischen dem Vorkommen von *Y. enterocolitica* und möglichen Risikofaktoren wie Bestandsgröße, Rein-Raus-Verfahren, Schädnerbekämpfung oder Personenzugang zum Stall feststellen. Pilon et al. (2000) wiederum bestätigen die eigenen Ergebnisse, indem sie indirekt mangelnde Hygiene für die Erregerverbreitung von einem Mastdurchgang zum

Nächsten verantwortlich machen. Des Weiteren benennen Fosse et al. (2009) Stroheinstreu und Teilspaltenböden, Kontakt mit Schadnagern und Vögeln, Masteinheiten <1000 Tiere, Umstallen während der Mast und das gleichzeitige Halten von anderen Nutztierarten als Risikofaktoren.

Zusammenfassend gilt für alle drei Erreger, dass es zwei Kategorien von Risikofaktoren gibt. Zum einen eine unzureichende Biosecurity und zum anderen ein mangelhaftes Herdenmanagement (Fosse et al., 2009). Vor diesem Hintergrund stellt die Einteilung von Mastbetrieben anhand eines einfachen Betriebsscores eine Methode dar, Fehler im allgemeinen Betriebsmanagement aufzuzeigen und eine erste Risikoeinschätzung vorzunehmen.

## 5.5 Schlussfolgerungen

Beim Nachweis von *Salmonella* spp. im Rahmen eines Bestandsscreenings bei Endmastschweinen ist die serologische Statusbestimmung mittels ELISA gegenüber einem direkten Erregernachweis die überlegene Methode. Im Verdachtsfall ist jedoch ergänzend eine kulturelle Anzucht aus Kotproben notwendig. Der Nachweis von *Salmonella* spp. mittels PCR aus Kottupfern stellt in den eigenen Untersuchungen keine sinnvolle Ergänzung, oder gar Alternative zur Serologie dar. Laut Literatur gelingt am Schlachthof der sicherste Nachweis aus Tonsillen, dies ist am lebenden Tier jedoch nicht praktikabel. Gerade vor dem Hintergrund der vergleichsweise geringen serologischen Nachweisrate in den eigenen Ergebnissen, stellt sich die Frage nach einer Verringerung des bestehenden cut-off OD% von  $\geq 40$  auf  $\geq 20$  mit dem Ziel salmonellenbelastete Betriebe frühest möglich zu detektieren. Als geeigneter Zeitpunkt für ein Bestandsscreening kommt den eigenen Ergebnissen zufolge ein Termin kurz vor der Schlachtung in Betracht, trotzdem besteht die Gefahr eine beginnende Infektion nicht zu detektieren.

Es erfolgte in allen mittels PCR beprobten Betrieben ein positiver Nachweis von *Campylobacter* spp.. Aufgrund der hohen Prävalenz des Erregers und den in der Literatur angegebenen Erfahrungen mit der Erhaltung *Campylobacter*-freier

Bestände erscheint die Entwicklung einer Bekämpfungsstrategie auf der Ebene der Primärproduktion fraglich. Da die Infektion der Ferkel bereits in den ersten Lebenswochen erfolgt, ist der Aufbau und Erhalt *Campylobacter*-freier Zuchtbestände Voraussetzung für die Schaffung erregerefreier Mastbestände. Der wirtschaftliche Aufwand sowie die Belastung durch strengere Hygienemaßnahmen und Kontrolluntersuchungen erscheinen im Zusammenhang mit *Campylobacter* spp., auf Ebene der Primärproduktion nicht angemessen, zumal durch die Bearbeitungsprozesse am Schlachttierkörper eine Erregerefreiheit, oder zumindest eine starke Reduktion desselben erreicht wird. Von weiterem Interesse sind *Campylobacter* spp. möglicherweise als Indikator für eine fäkale Kreuzkontamination am Schlachthof.

Die serologischen Untersuchungen mittels ELISA zeigten eine hohe Prävalenz von pathogenen *Yersinia* spp. in einem großen Teil der untersuchten Betriebe. Aufgrund der intermittierenden Ausscheidung des Erregers ist auch hier als Basis eines Screenings der serologische dem bakteriologischen Nachweis überlegen. Dabei ist den eigenen Ergebnissen nach und in Übereinstimmung mit Literaturangaben wiederum der Zeitpunkt für eine Beprobung kurz vor der Schlachtung am günstigsten. Eine Bekämpfung auf Ebene der Primärproduktion ist aufwendig, kann dann aber Erfolg haben. Laut Literaturangaben ist es möglich in Zuchtbetrieben, die den Ausgangspunkt für eine Infektion mit pathogenen *Yersinia* spp. darstellen, eine Erregerefreiheit zu erreichen und über mehrere Jahre aufrecht zu erhalten.

Mängel im Betriebsmanagement haben einen großen Einfluss auf die Prävalenz von *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp. und *Yersinia* spp.. Daher ist es möglich mittels eines Betriebsscore, der die relevanten Risikofaktoren erfasst, eine erste Risikoeinschätzung für einen Betrieb vorzunehmen.

Abschließend lässt sich sagen, dass einer regelmäßigen Untersuchung auf *Campylobacter* spp. und *Yersinia* spp. im Rahmen eines Bestandsscreenings erst besondere Bedeutung beigemessen wird, wenn aufgrund der im Rahmen der Richtlinie zur Überwachung von Zoonosen und Zoonoseerregern (RL 2003/99/EG) gewonnenen Daten reglementierende Maßnahmen ähnlich wie bei *Salmonella* spp. eingeführt werden. Ein Bestandsscreening stellt ein

wichtiges Hilfsmittel für die Risikoeinschätzung der potentiellen Erregerbelastung einer Tiergruppe am Schlachthof dar. Die pathologisch-anatomische Untersuchung am Schlachthof kann es aber nicht ersetzen.



## 6 Zusammenfassung

### **Vergleichende Untersuchungen zum Vorkommen von *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp. und *Yersinia* spp. bei Mastschweinen und deren Schlachtkörpern, unter Berücksichtigung von Haltungsfaktoren und Betriebsmanagement**

Im Rahmen dieser Arbeit wurde das Vorkommen humanpathogener *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp. und *Yersinia* spp. bei Mastschweinen untersucht. Dabei war das Ziel der durchgeführten Untersuchungen das Aufzeigen von Zusammenhängen zwischen den Ergebnissen der Probenentnahmen im Betrieb und am Schlachthof, unter Berücksichtigung der angewandten diagnostischen Methodik. Gleichzeitig diente der Versuchsaufbau der Bestimmung des Probenentnahmezeitpunktes im Betrieb, dessen Ergebnisse am deutlichsten mit denen am Schlachthof korrelierten. Des Weiteren wurden mögliche Zusammenhänge zwischen Betriebsstrukturen und Vorkommen der jeweiligen Erreger untersucht.

600 Mastschweine aus zehn bayerischen Mastbetrieben, wurden jeweils in der Mittelmast, Endmast und am Schlachthof beprobt. Im Rahmen der ersten beiden Probenentnahmen wurden alle Tiere serologisch mittels ELISA auf *Salmonella*- und *Yersinia*-Antikörper untersucht. Parallel dazu wurde aus Kottupfern ein direkter Erregernachweis mittels PCR auf *Campylobacter* spp. und *Salmonella* spp. durchgeführt. Im Verlauf der dritten Probenentnahme wurden von den entsprechenden Schlachttierkörpern Fleischsaftproben und Oberflächentupfer der Innenfläche gewonnen. Aus dem Fleischsaft erfolgte wiederum der Nachweis von *Salmonella*- und *Yersinia*-Antikörper mittels ELISA. Die Oberflächentupfer wurden mittels PCR auf das Vorkommen von *Campylobacter* spp. untersucht.

Der Anteil der mittels ELISA getesteten Tiere, die einen positiven Antikörpertiter gegen *Salmonella* spp. bei angewandtem cut-off  $\geq 40$  OD% aufwiesen, war mit durchschnittlich 0,8% gering. Wurde der cut-off auf  $\geq 20$  OD% gesenkt, verzehnfachte sich die durchschnittliche Nachweishäufigkeit. Vor dem Hintergrund der vergleichsweise geringen serologischen Nachweisrate in den eigenen Ergebnissen, stellt sich die Frage nach einer Verringerung des gemäß

Schweine-Salmonellen-VO bestehenden cut-off mit dem Ziel salmonellenbelastete Betriebe frühest möglich zu detektieren. Der Nachweis von *Salmonella* spp. mittels PCR aus Kottupfern stellt in den eigenen Untersuchungen keine sinnvolle Ergänzung oder gar Alternative zur serologischen Statusbestimmung mittels ELISA im Rahmen eines Bestandsscreenings dar.

Bei den Untersuchungen auf *Campylobacter* spp. aus Kottupfern mittels PCR erfolgten in allen beprobten Betrieben positive Nachweise von nahezu 100%. Bei der molekularbiologischen Untersuchung von Oberflächentupfern der Schlachttierkörper, kam es in Abhängigkeit des Schlachthofes zu unterschiedlich hohen Nachweisraten. Daher sind *Campylobacter* spp. möglicherweise als Indikator für eine fäkale Kreuzkontamination am Schlachthof von zusätzlichem Interesse.

Die serologischen Untersuchungen mittels ELISA zeigten eine hohe Prävalenz pathogener *Yersinia* spp. in einem Großteil der untersuchten Betriebe. Insgesamt wurden je nach Probenentnahme zwischen 42,2% und 60,0% aller untersuchten Tiere bei einem cut-off  $\geq 20$  OD% positiv auf Antikörper gegen *Yersinia* spp. getestet. Aufgrund der intermittierenden Ausscheidung des Erregers ist auch hier als Basis eines Screenings der serologische dem bakteriologischen Nachweis überlegen.

Der Vergleich der Ergebnisse der einzelnen Probenentnahmen miteinander ergab als geeigneten Zeitraum für ein Bestandsscreening einen Termin entsprechend der zweiten Probenentnahme innerhalb von 14 Tagen vor der Schlachtung. Da aufgezeigt werden konnte, dass die Erregerprävalenz innerhalb der Betriebe mit dem jeweiligen Betriebsscore korrelierte, ist die Verwendung eines solchen Scores im Rahmen eines Bestandsscreenings zielführend. Abschließend ist zu sagen, dass ein Bestandsscreening ein wichtiges Hilfsmittel für die Risikoeinschätzung der potentiellen Erregerbelastung einer Tiergruppe am Schlachthof darstellt. Die pathologisch-anatomische Untersuchung am Schlachthof kann es aber nicht ersetzen.

## 7 Summary

### **Comparative investigations about the occurrence of *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., and *Yersinia* spp. in fattening pigs and their carcasses depending on the housing conditions and farm management**

In the course of this study, the occurrence of *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., and *Yersinia* spp. in fattening pigs was investigated. For this purpose, examinations were performed to identify any relationships between the results of examinations carried out at the farm and at slaughter while taking the diagnostic methods used into consideration. The study also sought to determine the most suitable time to sample at the farm so that the sample results would correlate with the results from the examinations at slaughter. Furthermore, the possible relationships between the farm structure and the occurrence of the three pathogens were investigated.

A total of 600 fattening pigs from ten Bavarian fattening farms were examined at the middle and at the end of the fattening period including at slaughter. For the examinations during both fattening periods, all animals were serologically examined for *Salmonella* and *Yersinia* antibodies using the ELISA method. At the same time when this serological examination was performed, faecal swabs were examined for *Campylobacter* spp. and *Salmonella* spp. by PCR testing. At slaughter, meat juice samples and swabs from the carcass surface were collected. The detection of *Salmonella* and *Yersinia* antibodies in the meat juice samples was done by ELISA and the surface swabs were examined for *Campylobacter* spp. by PCR.

The proportion of animals with antibodies against *Salmonella* spp. based on an ELISA cut-off value of  $\geq 40$  OD% was 0.8%. This proportion was relatively low, however, if the ELISA cut-off value was lowered to  $\geq 20$  OD%, a tenfold increase was observed. Due to the relatively low serological detection rate determined in this study, it is questionable as to whether a reduction of the current European Swine-Salmonella cut-off value would be more suitable to detect farms infected with *Salmonella*. The detection of *Salmonella* spp. in the faecal swabs by PCR

proved to be an unsuitable supplement or alternative to the serological status determination by ELISA for the screening of a farm.

*Campylobacter* spp. was detected by PCR in all faecal swabs from the examined farms. Various high detection rates were seen after PCR testing of the surface swabs depending on which abattoir was examined. Therefore, *Campylobacter* spp. are probably a suitable indicator for a faecal cross-contamination at the abattoir.

Based on the serological examination by ELISA, a high prevalence for pathogenic *Yersinia* spp. was seen in a vast majority of the examined farms. Depending on the sampling collection, antibodies against *Yersinia* spp. were found in approximately 42.2% - 60.0% of all animals according to a cut-off value of  $\geq 20$  OD%. Due to the intermediate shedding of the pathogen, the serological examination is superior to the bacteriological detection as the basis for a farm screening.

After comparing the detection results from the individual sampling times, the most suitable timeframe for a farm screening is within 14 days prior to slaughter. Finally, a farm screening is a helpful and important aid to assess the risk of potential pathogens present in a pig group at slaughter. Since a correlation between the respective farm score and the prevalence of a pathogen in a farm was determined, the use of such a score system would further the aims of a farm screening. However, the farm screening cannot replace the meat inspection at slaughter.

## 8 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Verteilung der Betriebsgrößen .....	31
Abbildung 2: Einteilung der Betriebe in Kategorien aufgrund des Nachweises von Salmonellenantikörpern (cut-off $\geq 40$ OD%) .....	43
Abbildung 3: Einteilung der Betriebe in Kategorien aufgrund des Nachweises von Salmonellenantikörpern (cut-off $\geq 20$ OD%) .....	44
Abbildung 4: Änderung des Salmonellenstatus in Abhängigkeit des gewählten cut-off .....	45
Abbildung 5: Veränderung Betriebsstatus Salmonellen PCR.....	47
Abbildung 6: Vergleichende Verteilung der ELISA-Ergebnisse ( <i>Salmonella</i> spp.) aller Probenentnahmen ohne Berücksichtigung eines cut-off...	50
Abbildung 7: Darstellung der unterschiedlichen Korrelationen zwischen den Probenentnahmen (Salmonellen-ELISA OD%) mittels einer Ausgleichsgeraden .....	51
Abbildung 8: Darstellung von Korrelationen der drei Probenentnahmen (Salmonellen-ELISA OD%) unter besonderer Berücksichtigung der einzelnen Betriebe.....	52
Abbildung 9: Nachweis von <i>C. coli</i> in Abhängigkeit vom Schlachthof .....	54
Abbildung 10: Verlauf der Nachweisrate von <i>Campylobacter</i> spp. der an Schlachthof 1 und 3 geschlachteten Schweine .....	55
Abbildung 11: Einteilung nach cut-off $\geq 20$ OD% ( <i>Yersinia</i> spp.) .....	57
Abbildung 12: Veränderung Betriebsstatus ( <i>Yersinia</i> spp.) .....	58
Abbildung 13: Vergleichende Verteilung der ELISA-Ergebnisse ( <i>Yersinia</i> spp.) aller Probenentnahmen ohne Berücksichtigung eines cut-off...	59
Abbildung 14: Darstellung der unterschiedlichen Korrelationen zwischen den Probenentnahmen (Yersinien-ELISA OD%) mittels einer Ausgleichsgeraden .....	60
Abbildung 15: Darstellung von Korrelationen der drei Probenentnahmen (Yersinien-ELISA OD%) unter besonderer Berücksichtigung der einzelnen Betriebe .....	61
Abbildung 16: Einteilung der Betriebe nach Betriebsscore .....	62

## 9 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Probenplan für den Betrieb.....	32
Tabelle 2: Probenplan für den Schlachthof .....	34
Tabelle 3: Scorepunkteverteilung für die Betriebsstruktur .....	39
Tabelle 4: Nachweis <i>Salmonella</i> spp. (ELISA) .....	42
Tabelle 5: Vergleich Nachweismethoden <i>Salmonella</i> spp.....	46
Tabelle 6: Vergleich von ELISA und PCR für die 1. Probenentnahme eingeteilt nach cut-off $\geq 20$ OD% (a) und cut-off $\geq 40$ OD% (b) .....	48
Tabelle 7: Vergleich von ELISA und PCR für die 2. Probenentnahme eingeteilt nach cut-off $\geq 20$ OD% (a) und cut-off $\geq 40$ OD% (b) .....	48
Tabelle 8: Nachweis <i>Campylobacter</i> spp. (PCR) .....	53
Tabelle 9: Nachweis <i>Yersinia</i> spp. (ELISA).....	56
Tabelle 10: Zusammenhänge zwischen einem höheren oder niedrigeren Betriebsscore und einem höheren oder niedrigeren cut-off bei <i>Salmonella</i> spp. dargestellt mittels Kreuztabellen für 1. (a), 2. (b) und 3. (c) Probenentnahme .....	64
Tabelle 11: Zusammenhänge zwischen einem höheren oder niedrigeren Betriebsscore und der Einteilung nach cut-off $\geq 20$ OD% bei <i>Yersinia</i> spp. dargestellt mittels Kreuztabellen für 1. (a), 2. (b) und 3. (c) Probenentnahme .....	66

## 10 Literaturverzeichnis

### Gesetze und Verordnungen

**IfSG.** Gesetz zur Verhütung und Bekämpfung von Infektionskrankheiten beim Menschen (Infektionsschutzgesetz) vom 20. Juli 2000.

**RL 2003/99/EG.** Richtlinie 2003/99/EG des Europäischen Parlaments und des Rates vom 17. November 2003 zur Überwachung von Zoonosen und Zoonoseerregern und zur Änderung der Entscheidung 90/424/EWG des Rates sowie zur Aufhebung der Richtlinie 92/117/EWG des Rates.

**VO (EG) Nr. 852/2004.** Verordnung (EG) Nr. 852/2004 des Europäischen Rates vom 29. April 2004 über Lebensmittelhygiene.

**VO (EG) Nr. 853/2004.** Verordnung (EG) Nr. 853/2004 des Europäischen Rates vom 29. April 2004 über Lebensmittelhygiene.

**VO (EG) Nr. 854/2004.** Verordnung (EG) Nr. 854/2004 des Europäischen Rates vom 29. April 2004 über Lebensmittelhygiene.

**VO (EG) Nr.1244/2007.** Verordnung (EG) Nr. 1244/2007 der Kommission der Europäischen Gemeinschaft vom 24. Oktober 2007 zur Änderung der Verordnung (EG) Nr. 2074/2005 hinsichtlich der Durchführungsmaßnahmen für bestimmte Erzeugnisse tierischen Ursprungs, die zum menschlichen Verzehr bestimmt sind, und zur Festlegung spezifischer Bestimmungen über amtliche Kontrollen zur Fleischuntersuchung.

**VO (EG) 2160/2003.** Verordnung (EG) Nr. 2160/2003 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 17. November 2003 zur Bekämpfung von Salmonellen und bestimmten anderen durch Lebensmittel übertragbaren Zoonoseerregern.

**Schweine-Salmonellen-VO.** Verordnung zur Verminderung der Salmonellenverbreitung durch Schlachtschweine vom 13. März 2007.



- Alban, L., Stege, H., Dahl, J. (2002).** "The new classification system for slaughter-pig herds in the Danish Salmonella surveillance-and-control program." *Prev Vet Med* 53(1-2): 133-146.
- Alter, T., Gaull, F., Kasimir, S., Gurtler, M., Mielke, H., Linnebur, M., Fehlhaber, K. (2005).** "Prevalences and transmission routes of *Campylobacter* spp. strains within multiple pig farms." *Vet Microbiol* 108(3-4): 251-261.
- Andersen, J. K., Sorensen, R., Glensbjerg, M. (1991).** "Aspects of the epidemiology of *Yersinia enterocolitica*: a review." *Int J Food Microbiol* 13(3): 231-237.
- Arnold, M. E., Cook, A., Davies, R. (2005).** "A modelling approach to estimate the sensitivity of pooled faecal samples for isolation of *Salmonella* in pigs." *J R Soc Interface* 2(4): 365-372.
- Arnold, T. (2002).** Nachweis von *Salmonella* und *Yersinia enterocolitica* im persistent infizierten Schwein, *Vet. med. Diss. Leipzig*.
- Baggesen, D. L., Dahl, J., Wingstrand, A., Nielsen, B. (1997).** "Detection of *Salmonella enterica* in different materials from the environment of pig farms." *Proceedings of the 2<sup>nd</sup> International Symposium on Epidemiology and Control of Salmonella in Pork* Copenhagen: 173-175.
- Beloeil, P. A., Chauvin, C., Proux, K., Rose, N., Queguiner, S., Eveno, E., Houdayer, C., Rose, V., Fravalo, P., Madec, F. (2003).** "Longitudinal serological responses to *Salmonella enterica* of growing pigs in a subclinically infected herd." *Prev Vet Med* 60(3): 207-226.
- Beloeil, P. A., Chauvin, C., Proux, K., Madec, F., Fravalo, P., Alioum, A. (2004).** "Impact of the *Salmonella* status of market-age pigs and the pre-slaughter process on *Salmonella* caecal contamination at slaughter." *Vet Res* 35(5): 513-530.
- Beloeil, P. A., Chauvin, C., Proux, K., Fablet, C., Madec, F., Alioum, A. (2007).** "Risk factors for *Salmonella* seroconversion of fattening pigs in farrow-to-finish herds." *Vet Res* 38(6): 835-848.
- Berends, B. R., Urlings, H. A., Snijders, J. M., Van Knapen, F. (1996).** "Identification and quantification of risk factors in animal management and transport regarding *Salmonella* spp. in pigs." *Int J Food Microbiol* 30(1-2): 37-53.

- Berndtson, E., Danielsson-Tham, M. L., Engvall, A. (1996).** "Campylobacter incidence on a chicken farm and the spread of Campylobacter during the slaughter process." *Int J Food Microbiol* 32(1-2): 35-47.
- BfR (2008).** "Grundlagenstudie zur Erhebung der Prävalenz von Salmonellen in Mastschweinen." *Bundesinstitut für Risikobewertung Bericht vom 20.01.2008.*
- Black, R. E., Levine, M. M., Clements, M. L., Hughes, T. P., Blaser, M. J. (1988).** "Experimental Campylobacter jejuni infection in humans." *J Infect Dis* 157(3): 472-479.
- Blaha, T. (1992).** Infektketten - Epidemiologische Grundlagen der Salmonellose. Interdisziplinäres Symposium Salmonellose, Bonn-Bad Godesberg.
- Blaha, T. (1993).** "Die Ausbreitungsdynamik von Salmonellen in Tierbeständen." *Dtsch Tierarztl Wochenschr* 100: 278-280.
- Blaha, T. (2004).** "Bisherige Erkenntnisse aus dem QS-Salmonellen-monitoring- und reduzierungsprogramm." *Dtsch Tierarztl Wochenschr* 111(8): 324-326.
- Boes, J., Dahl, J., Nielsen, B., Krog, H. H. (2001).** "Effect of separate transport, lairage, and slaughter on occurrence of Salmonella typhimurium on slaughter carcasses." *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 114(9-10): 363-365.
- Boes, J., Nersting, L., Nielsen, E. M., Kranker, S., Enoe, C., Wachmann, H. C., Baggesen, D. L. (2005).** "Prevalence and diversity of Campylobacter jejuni in pig herds on farms with and without cattle or poultry." *J Food Prot* 68(4): 722-727.
- Bolton, F. J., Sails, A. D., Fox, A. J., Wareing, D. R., Greenway, D. L. (2002).** "Detection of Campylobacter jejuni and Campylobacter coli in foods by enrichment culture and polymerase chain reaction enzyme-linked immunosorbent assay." *J Food Prot* 65(5): 760-767.
- Borch, E., Nesbakken, T., Christensen, H. (1996).** "Hazard identification in swine slaughter with respect to foodborne bacteria." *Int J Food Microbiol* 30(1-2): 9-25.
- Botteldoorn, N., Heyndrickx, M., Rijpens, N., Grijspeerdt, K., Herman, L. (2003).** "Salmonella on pig carcasses: positive pigs and cross contamination in the slaughterhouse." *J Appl Microbiol* 95(5): 891-903.

- Bottone, E. J. (1999).** "Yersinia enterocolitica: overview and epidemiologic correlates." *Microbes Infect* 1(4): 323-333.
- Boughton, C., Egan, J., Kelly, G., Markey, B., Leonard, N. (2007).** "Rapid infection of pigs following exposure to environments contaminated with different levels of Salmonella typhimurium." *Foodborne Pathog Dis* 4(1): 33-40.
- Brenner, F. W., Villar, R. G., Angulo, F. J., Tauxe, R., Swaminathan, B. (2000).** "Salmonella Nomenclature." *J Clin Microbiol* 38(7): 2465-2467.
- Butzler, J. P. (2004).** "Campylobacter, from obscurity to celebrity." *Clin Microbiol Infect* 10(10): 868-876.
- Danish-Qualitätshandbuch (2007).** "QSG Qualitätshandbuch der Danish Meat Association." Via Internet: [www.danskeslagterier.dk/smcms/Danish\\_Deutsch/Qualitätssicherung/QSG\\_Handbuch/Index.htm?ID=329](http://www.danskeslagterier.dk/smcms/Danish_Deutsch/Qualitätssicherung/QSG_Handbuch/Index.htm?ID=329).
- Danske-Slagterier (2009).** "Homepage der Danske Slagterier." Via Internet: [www.danskeslagterier.dk/smcms/Danish\\_Deutsch/wissenscenter/veterinärforum/Index.htm?ID=9529](http://www.danskeslagterier.dk/smcms/Danish_Deutsch/wissenscenter/veterinärforum/Index.htm?ID=9529)
- Davies, P. R., Bovee, F. G., Funk, J. A., Morrow, W. E., Jones, F. T., Deen, J. (1998).** "Isolation of Salmonella serotypes from feces of pigs raised in a multiple-site production system." *J Am Vet Med Assoc* 212(12): 1925-1929.
- Davies, R. H., Wray, C. (1997).** "Distribution of *Salmonella* on 23 pig farms in the UK." *Proceedings of the 2nd International Symposium on Epidemiology and Control of Salmonella in Pork* Kopenhagen: 137-141.
- Davies, R. H., Heath, P. J., Coxon, S. M., Sayers, A. R. (2003).** "Evaluation of the use of pooled serum, pooled muscle tissue fluid (meat juice) and pooled faeces for monitoring pig herds for Salmonella." *J Appl Microbiol* 95(5): 1016-1025.
- Davies, R. H., Dalziel, R., Gibbens, J. C., Wilesmith, J. W., Ryan, J. M., Evans, S. J., Byrne, C., Paiba, G. A., Pascoe, S. J., Teale, C. J. (2004).** "National survey for Salmonella in pigs, cattle and sheep at slaughter in Great Britain (1999-2000)." *J Appl Microbiol* 96(4): 750-760.
- de Boer, E., Zwartkruis-Nahuis, J. T., Lesuis, R. (2008).** "Prevalence of human pathogenic Yersinia enterocolitica in pigs." *Tijdschr Diergeneeskd* 133(22): 938-941.

- Diekmann-Lennartz, C. (2008).** "Screening-Programme: Auch bei uns zukünftig ein Muss." *Via Internet: [www.landundforst.de/index.php?redid=206125](http://www.landundforst.de/index.php?redid=206125)*.
- Farzan, A., Friendship, R. M., Dewey, C. E. (2007).** "Evaluation of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) tests and culture for determining Salmonella status of a pig herd." *Epidemiol Infect* 135(2): 238-244.
- Feder, I., Nietfeld, J. C., Galland, J., Yeary, T., Sargeant, J. M., Oberst, R., Tamplin, M. L., Luchansky, J. B. (2001).** "Comparison of cultivation and PCR-hybridization for detection of Salmonella in porcine fecal and water samples." *J Clin Microbiol* 39(7): 2477-2484.
- Fosse, J., Seegers, H., Magras, C. (2008).** "Foodborne zoonoses due to meat: a quantitative approach for a comparative risk assessment applied to pig slaughtering in Europe." *Vet Res* 39(1): 1.
- Fosse, J., Seegers, H., Magras, C. (2009).** "Prevalence and risk factors for bacterial food-borne zoonotic hazards in slaughter pigs: a review." *Zoonoses Public Health* 56(8): 429-454.
- Fredriksson-Ahomaa, M., Bucher, M., Hank, C., Stolle, A., Korkeala, H. (2001).** "High prevalence of Yersinia enterocolitica 4:O3 on pig offal in southern Germany: a slaughtering technique problem." *Syst Appl Microbiol* 24(3): 457-463.
- Fredriksson-Ahomaa, M., Korkeala, H. (2003).** "Low occurrence of pathogenic Yersinia enterocolitica in clinical, food, and environmental samples: a methodological problem." *Clin Microbiol Rev* 16(2): 220-229.
- Fredriksson-Ahomaa, M., Stolle, A., Siitonen, A., Korkeala, H. (2006).** "Sporadic human Yersinia enterocolitica infections caused by bioserotype 4/O : 3 originate mainly from pigs." *J Med Microbiol* 55(Pt 6): 747-749.
- Fredriksson-Ahomaa, M., Stolle, A., Stephan, R. (2007).** "Prevalence of pathogenic Yersinia enterocolitica in pigs slaughtered at a Swiss abattoir." *Int J Food Microbiol* 119(3): 207-212.
- Fukushima, H., Nakamura, R., Ito, Y., Saito, K., Tsubokura, M., Otsuki, K. (1983).** "Ecological studies of Yersinia enterocolitica. I. Dissemination of Y. enterocolitica in pigs." *Vet Microbiol* 8(5): 469-483.

- Fukushima, H., Maruyama, K., Omori, I., Ito, K., Iorihara, M. (1990).** "Contamination of pigs with *Yersinia* at the slaughterhouse." *Fleischwirtschaft* 70: 1300-1302.
- Gaull, F. (2002).** Vorkommen von *Campylobacter coli* und *Campylobacter jejuni* bei Schweinen im Bestand und nach der Schlachtung sowie in weiteren Lebensmitteln tierischen Ursprungs - Typisierung der Isolate und Vergleich mit humanen Isolaten, *Vet. med. Diss. Leipzig*.
- Giesendorf, B. A., Quint, W. G. (1995).** "Detection and identification of *Campylobacter* spp. using the polymerase chain reaction." *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)* 41(5): 625-638.
- Gonzalez, I., Grant, K. A., Richardson, P. T., Park, S. F., Collins, M. D. (1997).** "Specific identification of the enteropathogens *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* by using a PCR test based on the *ceuE* gene encoding a putative virulence determinant." *J Clin Microbiol* 35(3): 759-763.
- Griffith, R. W., Schwartz, K. J., Meyerholz, D. K. (2006).** *Salmonella. Diseases of swine.* B. E. Straw, J. J. Z., S. D'Allaire, D. J. Taylor. Ames, *Blackwell Publishing*. 9<sup>th</sup> Edition: 739-754.
- Guibourdenche, M., Roggentin, P., Mikoleit, M., Fields, P. I., Bockemuhl, J., Grimont, P. A., Weill, F. X. (2010).** "Supplement 2003-2007 (No. 47) to the White-Kauffmann-Le Minor scheme." *Res Microbiol* 161(1): 26-29.
- Gürtler, M., Alter, T., Kasimir, S., Fehlhaber, K. (2005a).** "The importance of *Campylobacter coli* in human campylobacteriosis: prevalence and genetic characterization." *Epidemiol Infect* 133(6): 1081-1087.
- Gürtler, M., Alter, T., Kasimir, S., Linnebur, M., Fehlhaber, K. (2005b).** "Prevalence of *Yersinia enterocolitica* in fattening pigs." *J Food Prot* 68(4): 850-854.
- Harris, I. T., Fedorka-Cray, P. J., Gray, J. T., Thomas, L. A., Ferris, K. (1997).** "Prevalence of *Salmonella* organisms in swine feed." *J Am Vet Med Assoc* 210(3): 382-385.
- Harris, I. T. (2003).** "Serologic basis for assessment of subclinical *Salmonella* infection in swine: Part 2." *J Swine Health Prod* 11(6): 300-303.

- Harvey, R. B., Anderson, R. C., Young, C. R., Swindle, M. M., Genovese, K. J., Hume, M. E., Droleskey, R. E., Farrington, L. A., Ziprin, R. L., Nisbet, D. J. (2001).** "Effects of feed withdrawal and transport on cecal environment and *Campylobacter* concentrations in a swine surgical model." *J Food Prot* 64(5): 730-733.
- Heinritzi, K. (2006).** Krankheiten des Verdauungstraktes. Schweinekrankheiten. Heinritzi, K., Gindel, H. R., Reiner, G. and Schnurrbusch, U. Stuttgart, *Eugen Ulmer KG*. 1. Auflage: 147-162.
- Heise, W. (2004).** Infektionen des Gastrointestinaltrakts, der Gallengänge, der Gallenblase und des Pankreas. Infektionskrankheiten. N. Suttorp, M. M., W. Kiehl, B. Stück. Stuttgart, *Georg Thieme Verlag*. 1. Auflage: 194-258.
- Humphrey, T., O'Brien, S., Madsen, M. (2007).** "Campylobacters as zoonotic pathogens: a food production perspective." *Int J Food Microbiol* 117(3): 237-257.
- Hurd, H. S., Gailey, J. K., McKean, J. D., Rostagno, M. H. (2001a).** "Experimental rapid infection in market swine following exposure to a *Salmonella* contaminated environment." *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 114(9-10): 382-384.
- Hurd, H. S., McKean, J. D., Wesley, I. V., Karriker, L. A. (2001b).** "The effect of lairage on *Salmonella* isolation from market swine." *J Food Prot* 64(7): 939-944.
- Kapperud, G. (1991).** "Yersinia enterocolitica in food hygiene." *Int J Food Microbiol* 12(1): 53-65.
- Käsbohrer, A., Staak, C., Steinbach, G., Gleue, L., Conraths, F. J., Blaha, T., Helmuth, R., Rabsch, W., Protz, D. (1998).** Evaluation of the serological method for *Salmonella* detection in slaughter pigs. 4<sup>th</sup> World Congress - Foodborne Infections and Intoxications, Berlin.
- Kist, M. (2002).** "Lebensmittelbedingte Infektionen durch *Campylobacter*." *Bundesgesundheitsbl Gesundheitsforsch Gesundheitsschutz* 45(6): 497-506.
- Krunker, S., Dahl, J., Wingstrand, A. (2001).** "Bacteriological and serological examination and risk factor analysis of *Salmonella* occurrence in sow herds, including risk factors for high *Salmonella* seroprevalence in receiver finishing herds." *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 114(9-10): 350-352.

- Krauss, H., Weber, A., Appel, M., Enders, von Graevenitz, A., Isenberg, H. D., Schiefer, H. G., Slenczka, W., Zahner, H. (2004).** Zoonosen. Köln, *Deutscher Ärzte-Verlag GmbH*.
- Leblanc Maridor, M., Denis, M., Lalande, F., Beaurepaire, B., Cariolet, R., Fravallo, P., Federighi, M., Seegers, H., Belloc, C. (2008).** "Experimental infection of specific pathogen-free pigs with *Campylobacter*: excretion in faeces and transmission to non-inoculated pigs." *Vet Microbiol* 131(3-4): 309-317.
- Linton, A. H., Jennett, N. E., Heard, T. W. (1970).** "Multiplication of *Salmonella* in liquid feed and its influence on the duration of excretion in pigs." *Res Vet Sci* 11(5): 452-457.
- Linton, D., Lawson, A. J., Owen, R. J., Stanley, J. (1997).** "PCR detection, identification to species level, and fingerprinting of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* direct from diarrheic samples." *J Clin Microbiol* 35(10): 2568-2572.
- Lior, H. (1984).** "New, extended biotyping scheme for *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, and "*Campylobacter lariidis*"." *J Clin Microbiol* 20(4): 636-640.
- Mäki-Ikola, O., Heesemann, J., Toivanen, A., Granfors, K. (1997).** "High frequency of *Yersinia* antibodies in healthy populations in Finland and Germany." *Rheumatol Int* 16(6): 227-229.
- Malakauskas, M., Jorgensen, K., Nielsen, E. M., Ojeniyi, B., Olsen, J. E. (2006).** "Isolation of *Campylobacter* spp. from a pig slaughterhouse and analysis of cross-contamination." *Int J Food Microbiol* 108(3): 295-300.
- Marg, H., Scholz, H. C., Arnold, T., Rosler, U., Hensel, A. (2001).** "Influence of long-time transportation stress on re-activation of *Salmonella typhimurium* DT104 in experimentally infected pigs." *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 114(9-10): 385-388.
- Mataragas, M., Skandamis, P. N., Drosinos, E. H. (2008).** "Risk profiles of pork and poultry meat and risk ratings of various pathogen/product combinations." *Int J Food Microbiol* 126(1-2): 1-12.
- Meemken, D. (2006).** Untersuchung von Bewertungssystemen für Lebensmittelketteninformationen zur Nutzung im Rahmen der risikoorientierten Schlachttier- und Fleischuntersuchung von Schlachtschweinen, *Vet. med. Diss. Hannover*.

- Meemken, D., Klein, G., Blaha, T. (2009).** Nutzung von integrierten ante- und post mortem Informationen für die risikoorientierte Schlachttier- und Fleischuntersuchung von Schlachtschweinen. 9. Fachtagung Fleisch- und Geflügelfleischhygiene, Berlin.
- Metherell, L. A., Logan, J. M., Stanley, J. (1999).** "PCR-enzyme-linked immunosorbent assay for detection and identification of *Campylobacter* species: application to isolates and stool samples." *J Clin Microbiol* 37(2): 433-435.
- Miller, V. L., Bliska, J. B., Falkow, S. (1990).** "Nucleotide sequence of the *Yersinia enterocolitica* ail gene and characterization of the Ail protein product." *J Bacteriol* 172(2): 1062-1069.
- Mousing, J., Jensen, P. T., Halgaard, C., Bager, F., Feld, N., Nielsen, B., Nielsen, J. P., Bech-Nielsen, S. (1997).** "Nation-wide *Salmonella enterica* surveillance and control in Danish slaughter swine herds." *Prev Vet Med* 29(4): 247-261.
- Nattermann, H. F., Horsch, W. D., Ortmann, G. (1986).** "Die *Yersinia enterocolitica*-Infektion bei landwirtschaftlichen Nutztieren." *Monatsh Vet Med* 41: 23-26.
- Nesbakken, T., Eckner, K., Hoidal, H. K., Rotterud, O. J. (2003).** "Occurrence of *Yersinia enterocolitica* and *Campylobacter* spp. in slaughter pigs and consequences for meat inspection, slaughtering, and dressing procedures." *Int J Food Microbiol* 80(3): 231-240.
- Nesbakken, T., Iversen, T., Eckner, K., Lium, B. (2006).** "Testing of pathogenic *Yersinia enterocolitica* in pig herds based on the natural dynamic of infection." *Int J Food Microbiol* 111(2): 99-104.
- Nesbakken, T., Iversen, T., Lium, B. (2007).** "Pig herds free from human pathogenic *Yersinia enterocolitica*." *Emerg Infect Dis* 13(12): 1860-1864.
- Nielsen, B., Baggesen, D., Bager, F., Haugegaard, J., Lind, P. (1995).** "The serological response to *Salmonella* serovars typhimurium and infantis in experimentally infected pigs. The time course followed with an indirect anti-LPS ELISA and bacteriological examinations." *Vet Microbiol* 47(3-4): 205-218.
- Nielsen, B., Heisel, C., Wingstrand, A. (1996).** "Time course of the serological response to *Yersinia enterocolitica* O:3 in experimentally infected pigs." *Vet Microbiol* 48(3-4): 293-303.



- Nielsen, B., Ekeröth, L., Bager, F., Lind, P. (1998).** "Use of muscle fluid as a source of antibodies for serologic detection of *Salmonella* infection in slaughter pig herds." *J Vet Diagn Invest* 10(2): 158-163.
- Nielsen, B., Alban, L., Stege, H., Sørensen, L. L., Mogelmose, V., Bagger, J., Dahl, J., Baggesen, D. L. (2001).** "A new *Salmonella* surveillance and control programme in Danish pig herds and slaughterhouses." *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 114(9-10): 323-326.
- Nollet, N., Maes, D., Duchateau, L., Hautekiet, V., Houf, K., Van Hoof, J., De Zuttera, L., De Kruif, A., Geers, R. (2005).** "Discrepancies between the isolation of *Salmonella* from mesenteric lymph nodes and the results of serological screening in slaughter pigs." *Vet Res* 36(4): 545-555.
- Nowak, B., von Müffling, T., Chaunchom, S., Hartung, J. (2007).** "Salmonella contamination in pigs at slaughter and on the farm: a field study using an antibody ELISA test and a PCR technique." *Int J Food Microbiol* 115(3): 259-267.
- Pearce, R. A., Wallace, F. M., Call, J. E., Dudley, R. L., Oser, A., Yoder, L., Sheridan, J. J., Luchansky, J. B. (2003).** "Prevalence of *Campylobacter* within a swine slaughter and processing facility." *J Food Prot* 66(9): 1550-1556.
- Penner, J. L., Hennessy, J. N. (1980).** "Passive hemagglutination technique for serotyping *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni* on the basis of soluble heat-stable antigens." *J Clin Microbiol* 12(6): 732-737.
- Pilon, J., Higgins, R., Quessy, S. (2000).** "Epidemiological study of *Yersinia enterocolitica* in swine herds in Quebec." *Can Vet J* 41(5): 383-387.
- Pöhn, H. P. (1983).** "Epidemiology of infection in West Germany 1981." *MMW Munch Med Wochenschr* 125(11): 203-206.
- Proux, K., Houdayer, C., Humbert, F., Cariolet, R., Rose, V., Eveno, E., Madec, F. (2000).** "Development of a complete ELISA using *Salmonella* lipopolysaccharides of various serogroups allowing to detect all infected pigs." *Vet Res* 31(5): 481-490.
- QS (2010).** "Salmonellenmonitoring und -reduzierungsprogramme für die Schweinefleischerzeugung." *QS-Leitfaden* Version: 01.01.2010.

- Rajic, A., Keenlside, J., McFall, M. E., Deckert, A. E., Muckle, A. C., O'Connor, B. P., Manninen, K., Dewey, C. E., McEwen, S. A. (2005).** "Longitudinal study of Salmonella species in 90 Alberta swine finishing farms." *Vet Microbiol* 105(1): 47-56.
- Rautiainen, E., Konradsson, K., Lium, B., Mortensen, S., Wallgren, P. (2001).** "Disease surveillance strategies in swine." *Acta Vet Scand Suppl* 94: 31-42.
- RKI (2010).** "Meldepflichtige Infektionskrankheiten." *Epidemiologisches Bulletin* 3: 28-30.
- Scherer, K., Szabo, I., Rosler, U., Appel, B., Hensel, A., Nockler, K. (2008).** "Time course of infection with Salmonella typhimurium and its influence on fecal shedding, distribution in inner organs, and antibody response in fattening pigs." *J Food Prot* 71(4): 699-705.
- Schuh, M. (2001).** „Stallklimabedingte Erkrankungen beim Schwein.“ Gumpensteiner Bautagung: 93-96.
- Schulte-Wülwer, J. (2008).** "Regelmäßige Bluttests sorgen für Durchblick." *Schweinezucht und Schweinemast* 2: 26-29.
- Schuppers, M. E., Stephan, R., Ledergerber, U., Danuser, J., Bissig-Choisat, B., Stark, K. D., Regula, G. (2005).** "Clinical herd health, farm management and antimicrobial resistance in Campylobacter coli on finishing pig farms in Switzerland." *Prev Vet Med* 69(3-4): 189-202.
- Selbitz, H. J., Sinell, H. J., Sziegoleit, A. (1995).** „Das Salmonellen-Problem.“ Stuttgart, *Gustav Fischer Verlag*.
- Selbitz, H. J. (2007a).** "Campylobacter, Arcobacter und Helicobacter." Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre. Mayr, A. Stuttgart, *Enke Verlag*. 8. Auflage: 403-409.
- Selbitz, H. J. (2007b).** „Gramnegative fakultativ anaerobe Stäbchenbakterien.“ Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre. Mayr, A. Stuttgart, *Enke Verlag*. 8. Auflage: 426-472.
- Shelobolina, E. S., Sullivan, S. A., O'Neill, K. R., Nevin, K. P., Lovley, D. R. (2004).** "Isolation, characterization, and U(VI)-reducing potential of a facultatively anaerobic, acid-resistant Bacterium from Low-pH, nitrate- and U(VI)-contaminated subsurface sediment and description of Salmonella subterranea sp. nov." *Appl Environ Microbiol* 70(5): 2959-2965.

- Skjerve, E., Lium, B., Nielsen, B., Nesbakken, T. (1998).** "Control of *Yersinia enterocolitica* in pigs at herd level." *Int J Food Microbiol* 45(3): 195-203.
- Skov, M. N., Carstensen, B., Tornøe, N., Madsen, M. (1999).** "Evaluation of sampling methods for the detection of *Salmonella* in broiler flocks." *J Appl Microbiol* 86(4): 695-700.
- Soerensen, V., Jorsal, S. E., Mousing, J. (2006).** Disease of the Respiratory System. Disease of Swine. Straw, B. E., Zimmerman, J. J., D'Allaire, S. and Taylor, A. Aimes, *Blackwell Publishing*. 9<sup>th</sup> Edition: 149-177.
- Sorensen, R., Christensen, H. (1997).** "Campylobacter in pork - a problem?" *Dansk Veterinærtidsskrift* 80: 452-453.
- SPF-SUS (2008).** "Homepage des SPF-Systems der Danish Meat Association." Via Internet: [www.spf-sus.dk/sus/de-DE/](http://www.spf-sus.dk/sus/de-DE/).
- Studahl, A., Andersson, Y. (2000).** "Risk factors for indigenous campylobacter infection: a Swedish case-control study." *Epidemiol Infect* 125(2): 269-275.
- Szabo, I., Scherer, K., Roesler, U., Appel, B., Nockler, K., Hensel, A. (2008).** "Comparative examination and validation of ELISA test systems for *Salmonella typhimurium* diagnosis of slaughtering pigs." *Int J Food Microbiol* 124(1): 65-69.
- Tam, C. C., O'Brien, S. J., Adak, G. K., Meakins, S. M., Frost, J. A. (2003).** "Campylobacter coli - an important foodborne pathogen." *J Infect* 47(1): 28-32.
- Thibodeau, V., Frost, E. H., Chenier, S., Quessy, S. (1999).** "Presence of *Yersinia enterocolitica* in tissues of orally-inoculated pigs and the tonsils and feces of pigs at slaughter." *Can J Vet Res* 63(2): 96-100.
- Thibodeau, V., Frost, E. H., Quessy, S. (2001).** "Development of an ELISA procedure to detect swine carriers of pathogenic *Yersinia enterocolitica*." *Vet Microbiol* 82(3): 249-259.
- Truper, H. G., Euzéby, J. P. (2009).** "International code of nomenclature of prokaryotes. Appendix 9: Orthography." *Int J Syst Evol Microbiol* 59(Pt 8): 2107-2113.
- Tulloch, J. D. (1997).** "Meeting food safety challenges." *Aust Vet J* 75(11): 800-801.

- Turk, J. R., Fales, W. H., Maddox, C., Miller, M., Pace, L., Fischer, J., Kreeger, J., Johnson, G., Turnquist, S., Ramos, J. A., et al. (1992).** "Pneumonia associated with *Salmonella choleraesuis* infection in swine: 99 cases (1987-1990)." *J Am Vet Med Assoc* 201(10): 1615-1616.
- Varela, N. P., Friendship, R. M., Dewey, C. E. (2007).** "Prevalence of *Campylobacter* spp isolated from grower-finisher pigs in Ontario." *Can Vet J* 48(5): 515-517.
- von Altrock, A., Schutte, A., Hildebrandt, G. (2000).** "Results of the German investigation on the EU project "Salmonella in Pork (Salinpork)"--1. Investigations in the farms." *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 113(5): 191-201.
- von Altrock, A., Weber, R. M., Glünder, G., Waldmann, K. H. (2004).** „Investigation into the occurrence of *Campylobacter* spp. on pig carcasses." 18<sup>th</sup> Int. Pig Vet. Society Congress, Hamburg.
- von Altrock, A., Louis, A. L., Rosler, U., Alter, T., Beyerbach, M., Kreienbrocks, L., Waldmann, K. H. (2006).** "The bacteriological and serological prevalence of *Campylobacter* spp. and *Yersinia enterocolitica* in fattening pig herds in Lower Saxony." *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 119(9-10): 391-399.
- Waldmann, K. H., Plonait, H. (2004).** Erkrankungen der Verdauungsorgane und des Abdomens. Lehrbuch der Schweinekrankheiten. Waldmann, K. H., Wendt, M. Stuttgart, *Parey Verlag*. 4. Auflage: 307-386.
- Wang, G., Clark, C. G., Taylor, T. M., Pucknell, C., Barton, C., Price, L., Woodward, D. L., Rodgers, F. G. (2002).** "Colony multiplex PCR assay for identification and differentiation of *Campylobacter jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, *C. upsaliensis*, and *C. fetus* subsp. *fetus*." *J Clin Microbiol* 40(12): 4744-4747.
- Wang, Y., Qu, L., Uthe, J. J., Bearson, S. M., Kuhar, D., Lunney, J. K., Couture, O. P., Nettleton, D., Dekkers, J. C., Tuggle, C. K. (2007).** "Global transcriptional response of porcine mesenteric lymph nodes to *Salmonella enterica* serovar Typhimurium." *Genomics* 90(1): 72-84.
- Wassenaar, T. M., Newell, D. G. (2000).** "Genotyping of *Campylobacter* spp." *Appl Environ Microbiol* 66(1): 1-9.
- Wauters, G., Kandolo, K., Janssens, M. (1987).** "Revised biogrouping scheme of *Yersinia enterocolitica*." *Contrib Microbiol Immunol* 9: 14-21.

- Weber, E. (1996).** Epidemiologische Untersuchungen zum Eintrag von Salmonellen aus Schweinemastbeständen in die Lebensmittelkette, *Vet. med. Diss. Hannover*.
- Wegener, H. C., Hald, T., Lo Fo Wong, D., Madsen, M., Korsgaard, H., Bager, F., Gerner-Smidt, P., Molbak, K. (2003).** "Salmonella control programs in Denmark." *Emerg Infect Dis* 9(7): 774-780.
- Wehebrink, T., Kemper, N., Beilage, E., Krieter, J. (2007).** "Carry-over risks in fattening units for *Campylobacter* spp." 7<sup>th</sup> International Symposium on the Epidemiology and Control of Food-borne Pathogens in Pork, Verona.
- Wehebrink, T., Kemper, N., Beilage, E., Krieter, J. (2008).** "Prevalence of *Campylobacter* spp. and *Yersinia* spp. in the pig production." *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 121(1-2): 27-32.
- Weijtens, M. J., Bijker, P. G., Van der Plas, J., Urlings, H. A., Biesheuvel, M. H. (1993).** "Prevalence of campylobacter in pigs during fattening; an epidemiological study." *Vet Q* 15(4): 138-143.
- Weijtens, M. J., van der Plas, J., Bijker, P. G., Urlings, H. A., Koster, D., van Logtestijn, J. G., Huis in't Veld, J. H. (1997).** "The transmission of campylobacter in piggeries; an epidemiological study." *J Appl Microbiol* 83(6): 693-698.
- Weijtens, M. J., Urlings, H. A., Van der Plas, J. (2000).** "Establishing a campylobacter-free pig population through a top-down approach." *Lett Appl Microbiol* 30(6): 479-484.
- Wood, R. L., Pospischil, A., Rose, R. (1989).** "Distribution of persistent *Salmonella typhimurium* infection in internal organs of swine." *Am J Vet Res* 50(7): 1015-1021.
- Young, C. R., Harvey, R., Anderson, R., Nisbet, D., Stanker, L. H. (2000).** "Enteric colonisation following natural exposure to *Campylobacter* in pigs." *Res Vet Sci* 68(1): 75-78.
- ZNVG (2008).** "Statusdokumentation Tiergesundheitsmanagementsystem (TGM) der ZNVG e.G." Stand 31.12.2008.

## Danksagung

Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr. Dr. K. Heinritzi für die Überlassung dieses spannenden und aktuellen Themas, sowie für die Unterstützung in den vergangenen Jahren.

Ein weiterer besonderer Dank gilt meinem Mitstreiter Frederik Wilms-Schulze Kump, mit dem ich zusammen das Forschungsvorhaben durchgeführt habe und der mich in Allem unterstützt hat.

Besonderer Dank gilt Frau Martina Brand, die immer eine große Hilfe war und den Überblick nicht verlor.

Besonderer Dank gilt Frau Dr. Susanne Zöls für die Unterstützung und Betreuung über die letzten Jahre, sowie Herrn Dr. Andreas Palzer und Herrn Dr. Matthias Eddicks für die Betreuung, Beratung und aktive Mithilfe bei den Probenentnahmen. Auch bei Frau Dr. Carola Sauter-Louis möchte ich mich für die Unterstützung und Erklärung der medizinischen Statistik bedanken.

Auch meinen Freunden, Kollegen und Studenten, die bei der aktiven Durchführung mitgeholfen haben, gilt mein herzlicher Dank.

Für die fachliche Unterstützung seitens des LGL möchte ich Herrn Dr. Stefan Hörmannsdorfer, Herrn Dr. Hartmut Campe und Frau Dr. Ute Messelhäuser danken.

Den Landwirten und deren betreuenden Tierarztpraxen möchte ich ebenfalls für die konstruktive und angenehme Mitarbeit danken, sowie den beteiligten Schlachthöfen die ihre Schlachtprozesse für uns angepasst haben.

Zuletzt möchte ich mich bei meinen Eltern und Christiane für die große Unterstützung während des Studiums und der letzten Jahre bedanken. Ihr habt mich durch alle Höhen und Tiefen begleitet und immer an mich geglaubt.

